

N^o D'ORDRE 1339
SÉRIE A. 606

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Charles DHÉRÉ

Docteur en Médecine de l'Université de Paris,
Professeur de Physiologie à l'Université de Fribourg (Suisse).

I^{re} THÈSE. — RECHERCHES SPECTROGRAPHIQUES SUR L'ABSORPTION
DES RAYONS ULTRA-VIOLETS PAR LES ALBUMINOÏDES,
LES PROTÉIDES ET LEURS DÉRIVÉS.

II^{me} THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 8^{mai} 1909 devant la Commission d'examen.

MM. DASTRE, *président*.

HAUG,

G. BERTRAND, } *examineurs.*

MOLLIARD,

— —

FRIBOURG (SUISSE)

Imprim. et Photograv. Fragnière Frères

1909



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552606_0005

N^o D'ORDRE 1339

SÉRIE A. 606

THÈSES

PRÉSENTÉES A LA

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Charles DHÉRÉ

Docteur en Médecine de l'Université de Paris,
Professeur de Physiologie à l'Université de Fribourg (Suisse).

I^{re} THÈSE. — RECHERCHES SPECTROGRAPHIQUES SUR L'ABSORPTION
DES RAYONS ULTRA-VIOLETS PAR LES ALBUMINOÏDES,
LES PROTÉIDES ET LEURS DÉRIVÉS.

II^{me} THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 8^{juin} mai 1909 devant la Commission d'examen.

MM. DASTRE, *président*.

HAUG,

G. BERTRAND, } *examinateurs.*

MOLLIARD,

FRIBOURG (SUISSE)

Imprim. et Photograv. Fragnière Frères

1909



Faculté des Sciences de l'Université de Paris

MM.

Doyen.....	P. APPELL, <i>prof.</i>	Mécanique rationnelle.
Doyen honoraire....	G. DARBOUX, —	Géométrie supérieure.
Professeurs honor...	L. TROOST. Ch. WOLF. J. RIBAN.	
Professeurs	LIPPMANN.....	Physique.
	BOUTY.....	Physique.
	BOUSSINESQ.....	Physique math. et calcul des probabilités.
	PICARD.....	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
	H. POINCARÉ.....	Astronomie mathém. et mécanique céleste.
	Y. DELAGE.....	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
	G. BONNIER.....	Botanique.
	DASTRE.....	Physiologie.
	KÆNIGS.....	Mécanique physique et expérimentale.
	VÉLAIN.....	Géographie physique.
	GOUSAT.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	CHATIN.....	Histologie.
	FELLAT.....	Physique.
	HALLER.....	Chimie organique.
	JOANNIS.....	Chimie (Enseignement P. C. N.).
	JANET.....	Physique — —
	WALLERANT.....	Minéralogie.
	ANDOYER.....	Astronomie physique.
	PAINLEVÉ.....	Mathématiques générales.
	HAUG.....	Géologie.
	TANNERY.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	RAFFY.....	Application de l'analyse à la géométrie.
	HOUSSAY.....	Zoologie.
	H. LE CHATELIER.	Chimie.
	Gabriel BERTRAND.	Chimie biologique.
	Mme P. CURIE.....	Physique générale.
	CAULLERY.....	Zoologie (Évolution des êtres organisés).
	CHABRIÉ.....	Chimie appliquée.
	G. URBAIN.....	Chimie.
	N.....	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
Professeurs-adjoints	PUISEUX.....	Mécanique et astronomie.
	LEDUC.....	Physique.
	HADAMARD.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
	MATRUCHOT.....	Botanique.
	MICHEL.....	Minéralogie.
	BOUVEAULT.....	Chimie organique.
	BOREL.....	Théorie des fonctions.
Secrétaire	G. PRUVOT.....	Anatomie comparée.
	A. GUILLET.	

A MON CHER MAITRE

Monsieur A. DASTRE

*Membre de l'Académie des Sciences et de l'Académie de Médecine,
Professeur de Physiologie générale à la Sorbonne.*

A MON CHER AMI

Monsieur L. LAPICQUE

Maitre de Conférences de Physiologie à la Sorbonne.

AVANT-PROPOS

Le présent travail a été fait à la Faculté des sciences de l'Université de Fribourg.

Avant d'exposer mes recherches, je tiens à exprimer ma vive gratitude à toutes les personnes qui m'en ont facilité l'exécution.

Je dois une reconnaissance toute particulière à mon cher collègue M. de Kowalski, professeur de physique, qui m'a fourni maints renseignements précieux et a mis à ma disposition, de la façon la plus aimable, toutes les ressources de son laboratoire.

J'ai mis bien souvent à contribution l'obligeance et la compétence de M. Paul Joye, assistant de physique; je suis heureux de lui dire ici un amical merci.

Plusieurs savants ont bien voulu me donner des produits pour les soumettre à l'examen spectrographique, je les prie d'agréer l'assurance de ma sincère reconnaissance: ce sont: MM. G. Bertrand, professeur de chimie biologique à la Sorbonne; L. Lapicque, maître de conférences de physiologie à la Sorbonne; C. Neuberg, professeur de chimie pathologique à l'Université de Berlin; J. Galimard, ancien collaborateur des professeurs Hugounenq et Morel de l'Université de Lyon.

Enfin, j'adresse mes remerciements à MM. Fragnière frères, imprimeurs, pour le soin qu'ils ont apporté à la composition et au tirage de mon travail.

« Les données numériques qui caractérisent l'absorption inégale des diverses lumières conduiront peut-être prochainement à une méthode d'analyse chimique universelle. »

(BERTHELOT. — *Science et philosophie*, p. 337.)

INTRODUCTION

Les radiations lumineuses de longueurs d'onde inférieures à $396\ \mu\mu$ — qui sont plus réfrangibles que les radiations violettes, et que l'on qualifie, à cause de cela, d'*ultra-violettes*¹ — sont très inégalement transmises par les divers corps dans lesquels elles pénètrent. Les différences dans les propriétés d'absorption sont de deux ordres : d'une part, les corps transparents pour la lumière visible sont *plus ou moins fortement opaques* pour les rayons ultra-violets (invisibles dans les conditions ordinaires d'observation) ; d'autre part, ces corps interceptent les rayons ultra-violets tantôt uniquement d'une façon *continue* (à partir des rayons les plus réfrangibles), tantôt aussi d'une façon *discontinue* (une absorption sélective s'exerçant sur des rayons de réfrangibilité intermédiaire).

Le pouvoir de retenir une partie des rayons invisibles appartient non seulement à des substances colorées, mais encore à un très grand nombre de substances incolores qui dès lors peuvent être considérées, dans un sens plus général,

¹ Il ne s'agira, dans tout ce travail, que des rayons ultra-violets dont les longueurs d'onde sont comprises entre 200 et $396\ \mu\mu$. Cette zone spectrale embrasse, on le voit, des radiations dont les longueurs d'onde varient presque du simple au double, c'est-à-dire sont à peu près dans le même rapport que les longueurs d'onde des radiations extrêmes du spectre violet-rouge (396 - $795\ \mu\mu$).

comme étant elles aussi *chroïques* (Soret, 1878). On voit immédiatement par cette remarque quelle extension comporte l'analyse spectrale par absorption, lorsqu'on l'applique en lumière ultra-violette.

Tout un ensemble de recherches effectuées depuis une trentaine d'années a établi qu'il existe une relation étroite entre les spectres d'absorption ultra-violets des substances organiques et les formules de constitution de ces substances. Cette constatation confère aux spectres d'absorption considérés une signification profonde. Nous sommes ainsi dotés d'un procédé d'investigation extrêmement pénétrant qui nous permet, dans bien des cas, de nous rendre compte de la structure de la molécule sans lui faire subir d'altération notable.

Ce qui rend encore particulièrement précieux pour le chimiste les spectres d'absorption ultra-violets, c'est qu'ils apparaissent bien souvent dans les solutions très étendues observées sous une faible épaisseur. Ainsi, dans les conditions où j'opère, il me suffit d'un demi-milligramme d'acide urique pour l'étude complète du spectre d'absorption ultra-violet de ce corps. Il s'agit donc d'un procédé d'analyse qui peut atteindre une sensibilité exquise.

Enfin, comme l'exposition aux rayons ultra-violets, à condition de ne pas la prolonger outre mesure, laisse, en général, sensiblement intact le corps examiné, on voit qu'il s'agit d'une réaction éminemment économique.

Ces différents avantages qu'offre l'analyse spectrale par absorption dans l'ultra-violet en font une méthode très appropriée et recommandable en chimie physiologique.

En fait, nous voyons que, dès 1862, Stokes inaugure l'étude de l'absorption des rayons ultra-violets par les principes immédiats physiologiques en examinant des alcaloïdes, des glycosides, etc. Ces recherches ont conduit depuis à un grand nombre d'observations remarquables, dues principalement à J.-L. Soret (de 1878 à 1890) et à Hartley (depuis 1878). En ce qui concerne les substances protéiques simples et copulées — qui font l'objet du présent travail —, ces au-

teurs sont arrivés à des résultats d'un très haut intérêt. Néanmoins, il m'a semblé nécessaire non seulement d'étendre, mais aussi de reprendre leurs observations, pour les raisons que voici :

La chimie des albuminoïdes et des protéïdes a fait, dans ces dernières années, des progrès considérables. On est parvenu à distinguer approximativement les groupes essentiels, et les cadres ainsi constitués ont été rapidement enrichis de nombreuses espèces. Grâce à l'introduction de nouvelles techniques, on a réussi à préparer beaucoup de ces corps à un état de pureté relative vraiment satisfaisant. De plus, le progrès des procédés de clivage par hydrolyse a révélé toute une série de dérivés insoupçonnés jusque là. Il y avait donc lieu d'examiner les propriétés diactiniques pour les radiations très réfringibles des différents genres de substances albuminoïdes et protéïdes, obtenues aussi pures que le permettent les procédés perfectionnés actuels, ainsi que celles de leurs dérivés plus ou moins éloignés. Le spectre d'absorption ultra-violet de chacun de ces corps mérite d'être déterminé aussi bien que toute autre constante physique, — optique, par exemple, comme l'indice de réfraction, le pouvoir rotatoire spécifique, etc. De plus, suivant une remarque précédente, un intérêt tout spécial s'attache à la connaissance de ce caractère de translucidité, puisqu'on peut y reconnaître l'expression de la constitution chimique. Je me suis, par conséquent, préoccupé non seulement de fixer avec une précision et une exactitude aussi grandes que possible les constantes d'absorption des divers principes physiologiques examinés, mais aussi, dans la plupart des cas, de discuter l'interprétation de chacun des spectres obtenus d'après ce que l'on sait de la constitution du corps en question. Nul doute que l'on ne puisse bientôt pour les corps les plus complexes de la chimie biologique, comme déjà actuellement on y parvient bien souvent en chimie organique, obtenir des indications précieuses sur une constitution inconnue ou insuffisamment connue, par le simple examen du spectre d'absorption. L'exposé général publié

récemment par Hartley ¹ sur la question du rapport entre la constitution des corps et leurs propriétés d'absorption montre qu'un tel espoir est absolument légitime. De nombreux mémoires parus depuis la publication de ce travail ne font que nous confirmer dans cette opinion.

Quand j'ai abordé ces recherches sur les spectres ultra-violets, en 1905, je me suis vite rendu compte que la technique employée généralement était défectueuse sur bien des points, et je me suis efforcé tout d'abord de l'améliorer. Après de laborieux essais, je suis parvenu à faire construire des cuves pour l'absorption notablement supérieures, me semble-t-il, à toutes celles qui ont été utilisées jusqu'à présent, et j'ai réussi également à combiner des électrodes qui fournissent un spectre d'émission particulièrement bien approprié à la détermination de l'absorption des rayons ultra-violets. Je vais d'abord décrire en détail ces accessoires, ainsi que, d'une façon sommaire, l'ensemble de la technique: ce sera le sujet du premier chapitre.

¹ WALTER NOEL HARTLEY: *Beziehungen zwischen Absorption u. Constitution organischer Körper*, — in KAYSER's *Handbuch der Spectroscopie*, III, 149-315, 1905.

CHAPITRE I

Technique spectrographique.

On peut observer directement les spectres ultra-violets, soit d'une façon subjective à l'aide d'un oculaire spécial (oculaires de Baille et de Soret), soit d'une façon objective par projection sur un écran fluorescent. A l'observation immédiate du spectre, on préfère généralement aujourd'hui l'examen de l'image du spectre enregistrée par la photographie. La méthode spectro-photographique semble bien être, en effet, la méthode de choix, tant à cause de l'extrême sensibilité aux rayons ultra-violets des plaques aux sels d'argent qu'à cause des avantages de l'enregistrement de l'image au point de vue documentaire. Telles sont les raisons qui m'ont décidé à employer exclusivement, pour l'étude des spectres ultra-violets, la méthode spectro-photographique, appelée par abréviation : *spectrographie*.

1. Description du spectrographe. — Je me suis servi d'un spectrographe de V. Schumann (moyen modèle) spécialement construit pour moi par M. C. Leiss de la maison R. Fuess à Steglitz-Berlin (voir fig. 1, p. 8). En voici la description ¹ :

¹ V. SCHUMANN. — Sitzungs-Berichte d. k. Akademie d. Wiss., Math.-naturw. Klasse, CII, 415, 1893.

C. LEISS. — Zeitschr. f. Instrumentenkunde, XVII, 321, 1897; et XVIII, 325, 1898.

DE GRAMMONT : *Note sur les méthodes modernes d'observation en analyse spectrale*. — *Traité de Physique de CHWOLSON* (traduction française), II, 379, 1906.

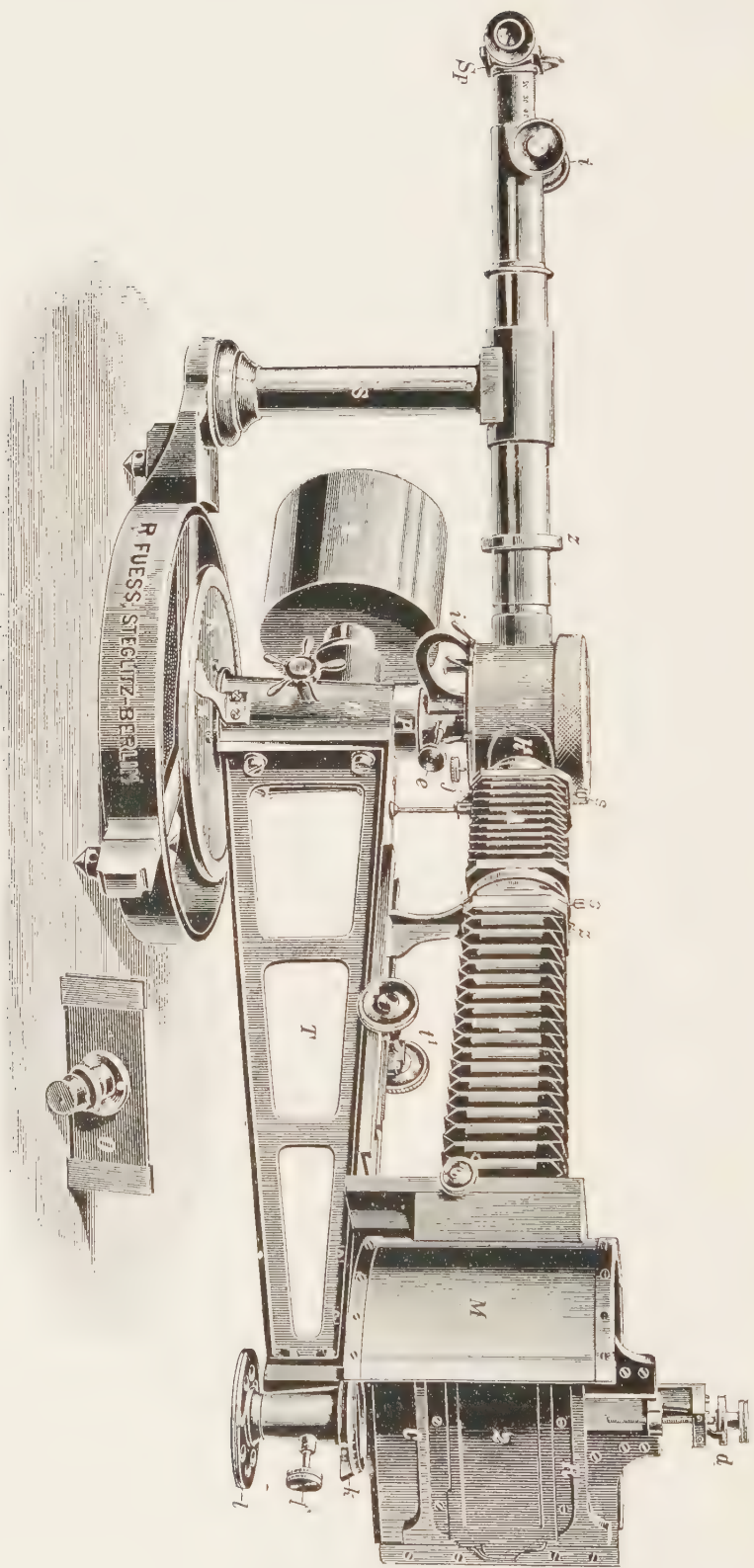


Fig. 1

A. Partie mécanique. — Le prisme est supporté par une plate-forme circulaire qui termine la colonne centrale conique constituant l'axe vertical de l'appareil. Il est renfermé dans une sorte de boisseau h et h^1 coiffé d'un couvercle et formé latéralement de deux enveloppes concentriques dont l'une partiellement évidée h est solidaire du tube collimateur et l'autre h^1 du bras porte-chambre mobile; il se trouve de la sorte absolument à l'abri de la lumière extérieure. La tablette sur laquelle repose le prisme peut être amenée à une horizontalité parfaite en agissant sur le bouton moleté j ; des manettes i , disposées de distance en distance sur le pourtour, servent à faire tourner la plate-forme autour de l'axe vertical passant par le centre. Le limbe est gradué en degrés, et un vernier au soixantième (divisé de 5 en 5) permet la lecture de $5'$. Quand le déplacement angulaire cherché est atteint, on fixe la plate-forme en serrant la vis de pression e .

Le collimateur repose sur la colonne s . A son extrémité, est la fente verticale, fixée sur un tube à tirage muni d'une crémaillère commandée par le pignon t . Les biseaux, qui terminent les deux lèvres limitant la fente, sont tournés vers l'intérieur du collimateur. Un des bords de la fente est mobile à l'aide d'une vis dont la tête porte un tambour gradué se déplaçant devant un index; la graduation permet de lire la largeur de l'ouverture à $0^{\text{mm}},001$ près. La hauteur de la fente est limitée par des fenêtres qu'on peut substituer l'une à l'autre en faisant tourner le disque dans lequel elles sont percées, disque appliqué sur les joues de la fente (dispositif de Lockyer). Ce disque présente sur la tranche des crans d'arrêt correspondant à la position convenable pour l'utilisation de chaque ouverture.



Fig. 2

La figure 2 montre cette pièce accessoire. La fenêtre a permet de découvrir une hauteur de la fente de $10^{\text{mm}},8$. Les quatre autres fenêtres ont chacune

2^{mm},5 de hauteur et sont disposées de façon à correspondre à des niveaux différents de la fente. Ces petites fenêtres sont très commodes pour obtenir la coïncidence rigoureuse (suivant leurs prolongements) des raies de même longueur d'onde sur une série de spectres superposés.

En z se trouve un diaphragme iris dont l'ouverture se lit sur une graduation extérieure: « il sert à masquer l'aberration sphérique de la lentille collimatrice et à éliminer la lumière parasite qui pourrait provenir de réflexions sur les biseaux internes de la fente » (Néculcéa)¹.

La chambre photographique est portée par un bras en aluminium T , et le système est équilibré par un contrepoids g . La position du bras porte-chambre, qui peut tourner autour de l'axe conique, est lue à l'aide d'un vernier au soixantième sur un cercle divisé en degrés K . La fixation se fait en serrant la vis à manettes a . La mise au point de l'objectif s , compris entre les deux soufflets AA , est commandée par la crémaillère et le pignon t' qui actionnent un patin, muni d'une division millimétrique, glissant devant un index qui repère le tirage. En z est un diaphragme iris.

Le porte-châssis BC est mobile, autour d'un axe vertical passant par son milieu, au moyen de la roue moletée I ; il tourne dans un tambour M étanche à la lumière. Son inclinaison est lue sur le cercle divisé k . En f est le bouton de serrage servant à bloquer le mouvement. Le porte-châssis pénètre dans une glissière, et peut être animé d'un mouvement de translation verticale en tournant la tête de la vis de rappel d . Un tambour (situé juste vis-à-vis de d) porte une rainure selon une génératrice, rainure dans laquelle pénètre un coin à ressort chaque fois qu'un tour complet est accompli. Le pas de la vis est de 2^{mm},7, et

¹ EUGÈNE NÉCULCÉA: *Recherches théoriques et expérimentales sur la constitution des spectres ultra-violets d'étincelles oscillantes. — Théorie interférentielle des appareils spectraux*. Thèse, Paris, 1906, p. 123.

convient très bien pour déplacer verticalement la plaque après chaque pose successive lorsqu'on emploie une fente de $2^{\text{mm}},5$ de hauteur, précisément celle que j'utilise habituellement. Le châssis est analogue à ceux qu'on emploie couramment en photographie; il est construit pour recevoir des plaques de dimensions $4\frac{1}{2} \times 12$ cm. A la place du châssis, on peut introduire un cadre supportant deux plaques superposées de $27^{\text{mm}},5 \times 120$ mm.; une de ces plaques est en verre ordinaire douci, l'autre est en verre d'urane; ces plaques portent deux systèmes de traits verticaux (fig. 3). L'emploi de ces verres sera indiqué en traitant du réglage. Il reste à signaler l'obturateur à volet *u*.



Fig. 3

B. Partie optique. — Le verre ordinaire (flint ou crown-glass) absorbe les rayons ultra-violets partiellement à partir de $\lambda\ 3800\ \text{\AA}^1$ et complètement à partir de $\lambda\ 3500\ \text{\AA}$. Pour étudier les radiations de plus petites longueurs d'onde, il faut avoir recours au quartz² transparent jusqu'à $\lambda\ 1850\ \text{\AA}$. Mais le quartz offre deux propriétés gênantes: la polarisation linéaire et la polarisation circulaire.

On remédie au premier de ces inconvénients en taillant le prisme de manière à ce que l'axe optique soit normal au

¹ Dans sa séance du 24 mai 1907, le Congrès des études solaires a adopté comme unité des longueurs d'onde lumineuses l'unité d'Angström, c'est-à-dire le dix-millième de micron ($0\mu\mu,1$). (Cf. CH.-ED. GUILLAUME: *L'unité des longueurs d'onde lumineuses*. — *Revue gén. des sciences*, XVIII, 479, 1907.)

La valeur numérique d'une longueur d'onde suivie de la lettre Å signifie que cette longueur d'onde est exprimée en unités d'Angström.

² Le spath fluor et le spath calcaire conviennent encore mieux, mais sont d'un prix inabordable à cause de l'extrême rareté des beaux échantillons.

Le verre *uviole*, introduit par la maison SCHOTT d'Iéna (Cf. *Zeitschr. f. Instrumentenkunde*, 1903), est transparent jusqu'à $\lambda\ 2530\ \text{\AA}$. Plusieurs modèles de spectrographes à système optique en verre uviole ont été construits récemment.

plan bissecteur de l'angle réfringent; étant donnée la faible biréfringence du quartz, il ne se produit pas de double image alors même que les rayons ne traversent pas le prisme rigoureusement suivant l'axe optique.

Pour annuler les effets de la polarisation rotatoire, qui affecte les rayons cheminant au voisinage de l'axe optique, on constitue le prisme, comme l'a indiqué Cornu¹, de deux demi-prismes provenant l'un d'un cristal dextrogyre, l'autre d'un cristal lévogyre. Ces deux demi-prismes, ayant chacun un angle réfringent de 30° , sont accolés, suivant le plan bissecteur² de l'angle dièdre de 60° qu'ils forment par leur réunion, au moyen d'une trace d'eau, d'alcool, ou mieux de glycérine (voir fig. 4, — la flèche indique la direction de l'axe optique³).

Les lentilles, également en quartz, sont de la forme plan-convexe symétrique; leur convexité regarde le prisme. Elles sont taillées de telle sorte que leur axe géométrique coïncide avec l'axe cristallographique. Il semble préférable que les lentilles collimatrice et objective soient de pouvoir rotatoire inverse (Cornu). Mais cela n'a sans doute pas grande importance. Pratiquement, à cause de la faible épaisseur des lentilles, les effets de la polarisation rotatoire sont insignifiants, de telle sorte qu'il n'y a, non plus, aucun avantage à employer des lentilles biconvexes formées par l'association de deux lentilles plan-convexes, provenant l'une d'un cristal droit, l'autre d'un cristal gauche (Schumann).

Encore une remarque pour finir. Les lentilles n'étant pas achromatisées, si la plaque est placée normalement par rapport à l'axe optique de l'objectif, il n'y a qu'une portion très

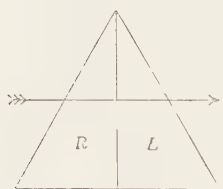


Fig. 4

¹ CORNU. — Journ. de Physique, VIII, 185, 1879; et C. R., 1885.

² Dans le prisme composé, les faces qui viennent en contact doivent être perpendiculaires à l'axe optique.

³ C'est la direction suivant laquelle cheminent les rayons qui se trouvent au minimum de déviation.

petite du spectre qui soit suffisamment au point. En effet, les rayons plus réfrangibles que la radiation exactement au point ont leurs foyers en avant, les rayons moins réfrangibles ont leurs foyers en arrière de la surface sensible.

Il faut donc, pour obtenir une image nette de toute l'étendue du spectre projeté, incliner la plaque de façon à ce que sa surface corresponde aussi exactement que possible à la surface des foyers. Mais, comme cette surface focale (diacaustique) est légèrement courbe, on ne peut obtenir qu'une coïncidence approximative (plan focal moyen), largement suffisante d'ailleurs pour la netteté de l'image. Lorsqu'on désire une coïncidence plus rigoureuse, il faut employer des pellicules souples que l'on incurve convenablement. Le schéma ci-dessous, imité de Néculea, montre la marche des rayons depuis la fente jusqu'à la surface photographique. On voit que, par ce dispositif, on met à profit l'aberration de réfrangibilité pour augmenter beaucoup la dispersion apparente.

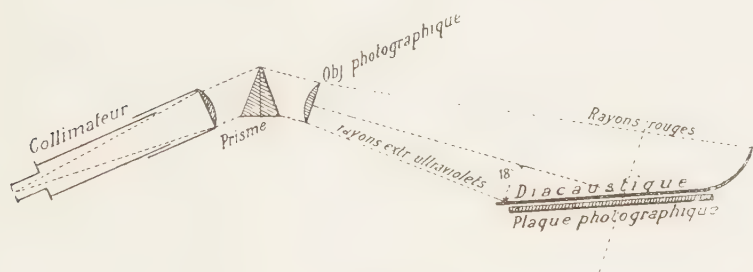


Fig. 5

2. Réglage du spectrographe. — Dans mon spectrographe, la distance focale des lentilles collimatrice et objective est la même et est égale à 400 mm. pour la raie D du sodium ($\lambda = 5892 \text{ \AA}$). Il est facile, dès lors, de calculer la distance focale pour une raie ultra-violettes quelconque, car ces deux distances sont dans le rapport $\frac{N_D - 1}{N - 1}$; N_D et N

étant les indices de réfraction du quartz pour la raie D et pour la raie considérée (Ed. Sarasin) ¹.

Dans le tableau suivant, j'indique, d'après Sarasin, les valeurs de N , ainsi que celles de $\frac{N_D - 1}{N - 1}$ (cas d'une lentille ayant une distance focale égale à l'unité pour la raie D), pour un certain nombre de raies comprises dans la portion du spectre que j'ai photographiée; je joins à ces valeurs les distances focales (déterminées par le calcul) des lentilles de mon spectrographe pour les mêmes raies.

RAIES	λ (UÅ)	N	$\frac{N_D - 1}{N - 1}$	$F\lambda$ $\left(\frac{N_D - 1}{N - 1} \times 0.4 \right)$
Na D	5892	1.54419	1 ^m .0000	400 ^{mm}
Cd 5	4799	1.55014	0.9892	396
» 6	4678	1.55104	0.9875	395
» 7	4416	1.55318	0.9837	393
» 9	3610	1.56348	0.9657	386
» 10	3466	1.56617	0.9612	384
» 11	3404	1.56744	0.9590	383
» 12	3286	1.57094	0.9531	381
» 17	2749	1.58750	0.9262	370
» 18	2573	1.59624	0.9127	365
» 23	2312	1.61402	0.8863	354
» 24	2265	1.61816	0.8803	352
» 25	2195	1.62502	0.8707	348
» 26	2144	1.63040	0.8632	345
Zn 27	2100	1.63569	0.8561	342
» 28	2063	1.64041	0.8498	340
» 29	2025	1.64566	0.8429	337

On utilise les valeurs de $F\lambda$ (dans la dernière colonne) pour amener la fente dans le plan focal de la lentille collimatrice et pour la mise au point du spectre sur la plaque photographique.

¹ EDOUARD SARASIN: *Indices de réfraction ordinaires et extraordinaires du quartz pour les rayons de différentes longueurs d'onde jusqu'à l'extrême ultra-violet*. — Arch. des sciences phys. et nat., LXI. 109, 1878.

Il est toujours préférable, d'après Néculeća, de mettre le collimateur au point pour la radiation médiane comprise entre les deux raies extrêmes de la zone spectrale photographiée.

Il faut ensuite — en faisant tourner la plate-forme — placer le prisme au minimum de déviation pour la raie la plus réfrangible de la portion du spectre photographiée (Schumann).

Pour cette opération, l'emploi du verre d'urane avec traits verticaux est très commode.

On procède à la mise au point du spectre en réglant la distance de la lentille objective à la plaque de façon à ce que la raie qui correspond à l'axe vertical du porte-châssis soit exactement au foyer, et on donne alors au porte-châssis une inclinaison telle que les raies extrêmes soient également au foyer.

Finalement, pour trouver le réglage le plus avantageux, il est indispensable de le rechercher d'une façon systématique en prenant des photographies séries¹. Ce n'est qu'après bien des tâtonnements, et au prix d'un labeur acharné, que l'on arrive au réglage le plus satisfaisant².

3. Source de lumière. — La lumière solaire a été utilisée, notamment pour étudier l'absorption des rayons violets extrêmes et ultra-violets par divers pigments physiologiques, par plusieurs observateurs (Soret, d'Arsonval, Gamgee, Tschirch, etc.). Le spectre solaire offre l'avantage d'être sensiblement continu : les quelques lacunes, dues aux raies de Fraunhofer qui le sillonnent, bien loin d'être gênantes, constituent de précieux repères. Mais ce spectre a l'inconvénient de ne pas s'étendre assez loin dans l'ultra-violet à

¹ Eder a publié un spécimen instructif de recherche photographique du minimum de déviation. — J.-M. EDER u. E. VALENTA: *Beiträge zur Photochemie u. Spektralanalyse*, (Planche IX), 134, 1904.

² On trouve dans la thèse de NÉCULEĆA une étude du réglage très soignée et complète que l'on peut recommander au lecteur qui désirerait des renseignements plus détaillés.

cause de l'absorption atmosphérique; au-delà de la raie S (λ 3100 Å), il n'impressionne plus sensiblement la plaque photographique. Sa limite inférieure connue est λ 2922 Å (Dr Simony sur le pic de Ténériffe à 3700 mètres).

La lumière oxyhydrique — par incandescence de la chaux, de la magnésie, du zircon — ne dépasse guère λ 3000 Å et, à partir de λ 3500 Å, l'affaiblissement est notable; le magnésium enflammé va jusqu'à λ 2800 Å¹.

Si l'on veut avoir des rayons plus réfringibles suffisamment intenses, il faut recourir à l'arc ou mieux à l'étincelle électriques.

On sait que le spectre de l'étincelle dépend de la nature de la décharge, du milieu dans lequel elle se produit, et de la constitution des électrodes.

Le but à atteindre est l'obtention d'un spectre d'émission dont les raies soient aussi serrées que possible, riche en rayons de très petites longueurs d'onde, d'une luminosité à peu près homogène, et présentant pourtant un certain nombre de raies plus éclatantes convenablement réparties pour permettre de repérer aisément et exactement le spectre.

J'ai obtenu un spectre d'émission réalisant assez bien ces desiderata en me plaçant dans les conditions que je vais indiquer.

A. Générateur d'étincelles. — J'emploie une bobine d'induction (de Max Kohl, Chemnitz) pouvant fournir une étincelle de 40 cm. Le primaire est du modèle Walter, formé de 4 fils connectés à 8 plots que l'on couple de différentes façons au moyen de combinateurs à bouchons: ce qui permet de faire varier au besoin la self-induction et la résistance.

J'ai alimenté la bobine tantôt avec le courant continu de 110 volts, tantôt avec le courant alternatif de 150 volts

¹ KAYSER, Op. cit., III, 63; et EDER, loc. cit., 50.

(et de 50 périodes par seconde). L'intensité moyenne du courant primaire était maintenue au voisinage de 5 ampères par intercalation d'une résistance convenable.

Pour produire les variations du courant primaire, dans le cas de l'emploi du courant continu, j'ai utilisé, dans des essais successifs, l'interrupteur électrolytique de Wehnelt ainsi que les interrupteurs mécaniques de Max Kohl et de Klingelfuss¹. Ces derniers sont des interrupteurs à mercure actionnés par un électro-moteur muni d'un tachymètre.

Tous ces modes d'alimentation de la bobine fournissent de bons résultats ; mais, finalement, j'ai donné la préférence au courant alternatif parce que son emploi est particulièrement simple et pratique.

Dans le circuit secondaire était placée en dérivation une batterie de 6 condensateurs Moscicki, associés en tension, d'une capacité totale égale à 0,0055 microfarad².

La décharge éclatait dans l'air entre des électrodes métalliques distantes de 15 mm., supportées par un spectro-déflagrateur de précision.

B. Caractères des étincelles. — Electrodes. — La résistance et la self-induction du circuit de décharge étant très faibles, on a affaire à l'étincelle condensée ordinaire, qui jaillit avec un bruit crépitant et avec un éclat particulier.

La constitution d'une telle étincelle est bien connue maintenant, grâce surtout aux recherches de Hemsalech. Elle est formée de trois parties : le trait de feu, dirigé suivant l'axe de l'étincelle, donnant principalement les raies de l'air, puis quelques oscillations très rapides produisant les raies métalliques, dites de haute température, et enfin l'auréole elle-même qui fournit les raies métalliques, dites de basse température (de Grammont).

¹ Quand on se servait des interrupteurs mécaniques, on plaçait un condensateur dans le circuit primaire en dérivation sur l'interrupteur.

² Cette valeur a été déterminée par M. Joye, assistant de physique.

Le spectre de l'étincelle ordinaire résulte donc de la superposition de deux spectres différents : le spectre de l'atmosphère qui entoure les électrodes et le spectre du métal (ou des métaux) constituant les électrodes. On comprend par cette remarque toute l'importance que présente la composition des électrodes ; de son choix dépend en grande partie la qualité de la lumière.

Le spectre du fer est très riche en raies ultra-violettes intenses depuis le violet jusqu'à λ 3500 Å, et surtout de λ 3000 Å à λ 2300 Å ; la région qui s'étend de λ 3500 Å à λ 3000 Å est notablement moins lumineuse ; enfin, les raies plus réfrangibles que λ 2300 Å sont très faibles et ne conviennent pas pour l'étude de l'absorption¹.

Les spectres du cadmium, du zinc et du plomb contiennent des raies de longueurs d'onde plus courtes que λ 2300 Å et d'une intensité suffisante. En unissant ces trois métaux en parties égales, Eder a formé, en 1890, un alliage dont le spectre présente des raies éclatantes convenablement distribuées dans toute l'étendue du spectre jusqu'à λ 2025 Å. Le spectre de cet alliage convient parfaitement comme spectre de comparaison, car les raies sont assez espacées et faciles à identifier ; mais l'écartement des raies, particulièrement notable de λ 2558 Å à λ 2329 Å, est, au contraire, un désavantage pour l'examen des spectres d'absorption.

La comparaison des spectres du fer et de l'alliage d'Eder montre qu'ils se complètent très heureusement (voir fig. 7). Si donc on pouvait unir le fer à l'alliage d'Eder, on aurait un alliage dont le spectre serait sans doute très approprié. Malheureusement, cet alliage n'est pas réalisable² ; il faut tourner la difficulté. On peut se servir d'une électrode de fer et d'une électrode d'alliage d'Eder ; mais on réussit à

¹ Eder, ouvr. cité, 49.

² Cela résulte des essais, restés infructueux, qu'a bien voulu tenter pour moi la maison Merck qui m'a fourni l'alliage d'Eder.

avoir une lumière bien supérieure, comme je l'ai reconnu après de nombreuses tentatives, en constituant chacune des électrodes d'un noyau de fer entouré d'un manchon d'alliage d'Eder (fig. 6). Ces électrodes fournissent un spectre très serré, pratiquement presque continu, depuis Zn λ 4810 Å (dans le bleu) jusqu'à Cd λ 2313 Å (fig. 7). Une douzaine de raies plus réfrangibles, dues à l'alliage d'Eder, permettent d'aller jusqu'à λ 2025 Å. Je me suis contenté, en général, de pousser l'examen seulement jusqu'à λ 2100 Å ; mais, sur la plupart de mes clichés, les raies plus réfrangibles, quoique faibles, sont nettement visibles.

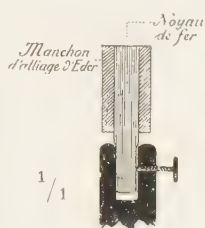


Fig. 6

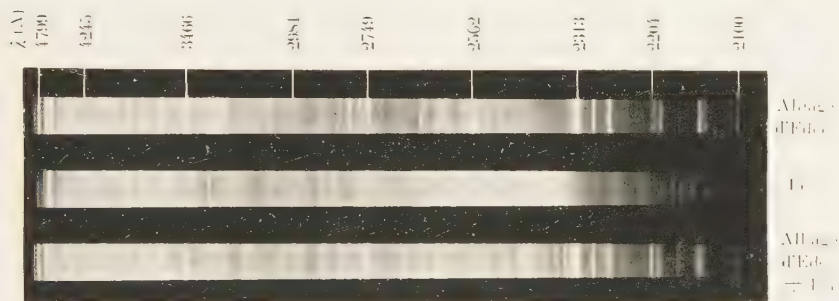


Fig. 7

C. Spectro-déflagrateur. — J'ai employé un spectro-déflagrateur construit, sur les indications de MM. de Kowalski et Joye, par la « Société genevoise pour la construction des instruments de physique ». La description de ce modèle perfectionné doit être publiée prochainement, par les auteurs eux-mêmes, dans la *Zeitschrift für Instrumentenkunde*.

Le seul point important à noter ici est que la distance du spectro-déflagrateur au spectrographe était telle que l'axe des bornes porte-électrodes se trouvait à 40 cm. de la fente du collimateur.

4. Cuves d'absorption. — Dans les recherches que nous avons en vue, il s'agit de déterminer l'absorption des rayons ultra-violetes par des corps soit liquides, soit en solution. On interposera donc sur le trajet des rayons lumineux, entre le déchargeur et le collimateur, une couche de la liqueur à examiner, renfermée dans une cuve ayant deux parois planes et parallèles en quartz parfaitement limpide et incolore. Ces lames de quartz sont de signes contraires, et leurs faces parallèles sont perpendiculaires à l'axe cristallographique. On vérifie, avant l'emploi, que leur pouvoir absorbant est insensible pour les rayons dont on étudie l'absorption. Dans le cas contraire, il faudrait évidemment tenir compte de ce pouvoir absorbant ¹.

Les divers modèles de cuves spécialement recommandables peuvent être ramenés à trois types :

A. 1^{er} type. — C'est la cuve ordinaire à faces parallèles dont l'écartement est invariable et la distance intérieure uniforme. Un excellent modèle est celui imaginé par Schultz pour les déterminations spectrophotométriques ; il est trop connu pour qu'il soit nécessaire de le décrire ici ². Ce modèle convient très bien pour examiner une mince tranche de liqueur (de 1 cm. d'épaisseur, par exemple) ; mais, dans certains cas — quand on a affaire, par exemple, à des solutions très transparentes dont on ne peut pas augmenter la concentration —, il devient indispensable de pouvoir examiner la liqueur sous une épaisseur considérable, et on se sert alors de tubes analogues à ceux utilisés pour les détermi-

¹ Soret a constaté que l'interposition d'un canon de quartz de 30 mm. d'épaisseur affaiblit notablement, mais n'intercepte pourtant pas la raie 30 de l'aluminium (λ 1988 Å). — J.-L. Soret : *Recherches sur l'absorption des rayons ultra-violetes par diverses substances*. — Arch. des sciences phys. et nat., LXI, 333, 1878.

² Signalons seulement que de Saint-Martin lui a fait subir une ingénieuse modification en vue de certaines recherches spéciales. — L.-G. DE SAINT-MARTIN : *Spectrophotométrie du sang*, 97, 1898.

nations polarimétriques. Le modèle que j'emploie ordinairement permet d'examiner la liqueur sous une épaisseur de 25 cm. Le diamètre intérieur du tube est de 1 cm. seulement, de sorte qu'il suffit d'une vingtaine de cc. pour le remplir. Une tubulure, placée au milieu du tube, facilite le remplissage. Des obturateurs en quartz sont appliqués aux extrémités au moyen de viroles (bonnettes) en nickel massif.

B. 2^{me} type. — Il diffère du précédent en ce que la distance intérieure des faces parallèles n'est pas uniforme, ce qui permet d'examiner la liqueur sous différentes épaisseurs. Un modèle de ce genre, fort bien compris, a été imaginé par Wynter Blyth¹. En voici la description sommaire : Un bloc de quartz parallélépipédique est entaillé en escalier sur une de ses faces ; parallèlement et vis-à-vis des surfaces verticales des échelons, est fixée, à une distance invariable, une lame plane de quartz ; des plaques de verre ferment latéralement cette cuve dont les parties sont assemblées au moyen d'une monture métallique. A la différence d'épaisseur de la paroi de quartz au niveau de chaque gradin, correspond évidemment une différence équivalente, mais inverse, d'épaisseur de la couche liquide. En déplaçant verticalement la cuve, on amène chaque degré successivement devant la fente, et on fait ainsi une série d'observations de la liqueur sous des épaisseurs différentes.

Les principaux inconvénients qu'offre ce modèle sont les suivants : Les épaisseurs dont on dispose ne sont pas modifiables ; elles sont nécessairement en petit nombre (5, dans le modèle original) et assez faibles (16 mm. maximum du modèle original) ; de plus, l'épaisseur de quartz traversée par la lumière diffère dans chaque cas. Enfin, cette cuve est extrêmement difficile à construire d'une façon irréprochable, ce qui en rend le prix, pour ainsi dire, inabordable².

¹ A. WYNTER BLYTH : *The ultra-violet Absorption Spectrum of Proteids in relation to Tyrosine.* — *Journal of the chem. Society.* LXXV (Transactions), 1162, 1899.

² Le constructeur, A. Hilger, de Londres, la vend 22 liv. (550 fr.).

Pour faire varier l'épaisseur, Krüss¹ a recours à un dispositif en somme très analogue. Dans une cuve de Schultz à faces parallèles en quartz, il introduit des dés de quartz (corps de Schultz) d'épaisseurs diverses.

C. 3^{me} type. — Dans les cuves qui appartiennent à ce type, la variation d'épaisseur, par écartement des parois parallèles, est continue et mesurable.

Les cuves des colorimètres à cylindres plongeurs de Laurent, Duboscq, etc., répondent à cette définition. Elles sont utilisables dans le cas particulier, mais nécessitent la superposition verticale du déflagrateur, de la cuve et du collimateur. Cette position est extrêmement gênante à plusieurs points de vue, et exige un spectroscopie d'une construction toute spéciale².

Les cuves qui permettent de faire varier l'épaisseur de la couche liquide dans le sens horizontal sont incomparablement plus pratiques. Celle que construit la « Cambridge scientific Instrument Company » est particulièrement commode. Une auge en laiton, à section angulaire, est fermée, à une de ses extrémités seulement, par une plaque fenêtrée. Dans cette auge glisse un bloc prismatique portant de part en part une ouverture cylindrique de diamètre égal à celui de la fenêtre circulaire. Un disque en quartz est enchâssé dans la fenêtre, et un autre ajusté à l'extrémité du prisme tournée vers la fenêtre. Une tubulure inférieure, qu'on met en communication par un tube de caoutchouc avec un réservoir, sert à l'introduction du liquide. En déplaçant le prisme, on fait varier l'épaisseur de la couche liquide, qui est mesurée par simple lecture sur un vernier dont est munie la cuve. L'épaisseur peut atteindre 60 mm. J'ai apporté à ce

¹ PAUL KRÜSS : *Ueber die Absorption organischer Farbstoffe im Ultraviolet*. — *Zeitschr. f. physik. Chem.*, LI, 257, 1905.

² Consulter J.-L. SORET : *Recherches sur l'absorption*, etc., 4^e mémoire. — *Arch. des sciences phys. et nat.*, 3^e période, IX, 516 et Pl. XI, 1883.

modèle deux perfectionnements : J'ai rendu possible la précision des petits déplacements en faisant à volonté glisser le prisme par l'intermédiaire d'une vis de rappel ; j'ai de plus fait dorer fortement l'appareil pour éviter toute altération du liquide par l'attaque possible des surfaces de laiton. La figure 8 montre, vue en dessus, cette cuve modifiée qui m'a rendu de grands services au début de mes recherches.

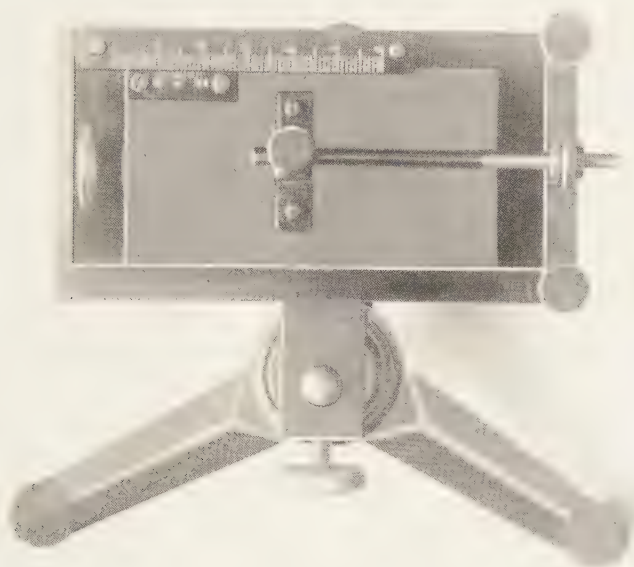


Fig. 8

La dorure, néanmoins, ne peut suffire à donner une entière sécurité quand on se sert de liquides quelque peu corrosifs, et une cuve en verre serait évidemment bien préférable. La cuve précédente offre aussi l'inconvénient de ne pas permettre d'opérer dans une atmosphère de composition modifiable (exempte d'oxygène, par exemple, comme cela est nécessaire dans certaines recherches).

Je me suis efforcé de combiner des modèles de cuves satisfaisant tous ces desiderata.

On sait que la maison Lür est parvenue¹ à construire, pour l'usage médical, des seringues exclusivement en cristal d'une étanchéité parfaite; ce sont ces seringues qui m'ont donné l'idée première des cuves tubulaires que je vais décrire.

Dans un manchon M (fig. 9) pénètre un tube P. Ces deux pièces en verre correspondent respectivement au corps de pompe et au piston de la seringue dont dérive ce modèle de cuve. Les surfaces, intérieure du manchon et extérieure du piston, sont soigneusement rodées et rigoureusement ajustées de façon à

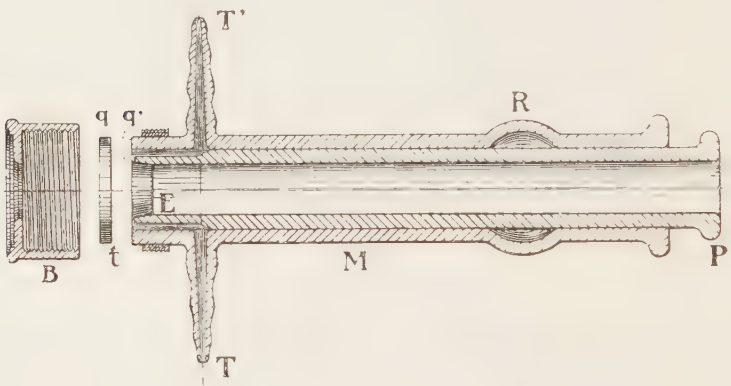


Fig. 9 — Coupe longitudinale.

pouvoir glisser l'une sur l'autre à frottement très doux et en restant exactement en contact. Sur la tranche t du manchon, parfaitement dressée et polie, s'applique, au moyen de la bonnette B², un galet de quartz q, qui ferme cette extrémité du corps de pompe. L'extrémité E du piston est légèrement évasée intérieurement, et un obturateur en quartz q' s'y engage comme un bouchon dans le goulot d'un flacon fermé à l'émeri. Il est superflu de coller cet obturateur quand les

¹ MALASSEZ. — C. R. Soc. de Biologie, XLVI, 689, 1894.

² La bonnette et la douille (à vis) sont en nickel massif. La douille est fixée au verre au moyen d'une soudure métallique.



Fig. 10

surfaces coaptées se correspondent rigoureusement ; néanmoins, les deux pièces font mieux corps si on les assemble en interposant une trace de silicate de soude ¹.

Les tubulures T et T' servent à l'introduction et à l'issue du liquide: elles se prolongent par des tubes de caoutchouc (voir le montage fig. 10, p. 25).

Si le piston présentait jusqu'à l'extrémité E le même calibre, le passage du liquide ne serait pas possible quand le piston est enfoncé comme sur le diagramme fig. 9: il serait nécessaire, pour permettre la pénétration du liquide, de le tirer jusqu'à ce que les ouvertures des tubulures fussent démasquées, ce qui rendrait impossible l'observation du liquide en couche mince. Cette extrémité du piston doit donc être légèrement étirée, de façon à ce qu'il existe un espace annulaire communiquant avec les lumières des tubulures alors même que les quartz sont en contact (épaisseur 0).

Il me reste à indiquer le but du renflement R. Il est destiné à recevoir les gouttes qui peuvent suinter dans certains cas exceptionnels ², par exemple : quand on emploie une liqueur dont la tension superficielle est notablement inférieure à celle de l'eau, quand la cuve reste très longtemps remplie, quand le piston est fortement tiré, etc. L'évacuation du liquide collecté se fait par une tubulure dans le modèle perfectionné (fig. 11 C). Ce renflement à tubulure peut aussi servir à constituer un joint pneumatique à mercure quand on veut opérer à l'abri de l'air (la tubulure est alors placée en haut et est utilisée pour l'introduction du mercure). Notons, en passant, que, grâce à ce joint à mercure, cette cuve est utilisable, dans les recherches physiques, pour l'examen des vapeurs et des gaz.

¹ On peut, au besoin, recouvrir le joint d'une légère couche de paraffine.

² S. GLÜCKSMANN (*Centralblatt f. Bacteriologie*, XXV, 18, 1899) a décrit une seringue munie d'un renflement analogue pour recueillir le liquide qui peut refluer lorsqu'on pousse le piston pour faire une injection. Je lui dois l'idée de ce perfectionnement.

Dans les modèles précédemment décrits, le liquide passe dans des tubes de caoutchouc. Le modèle B (fig. 11), à flacon réservoir soudé à la cuve, permet de ne mettre le liquide en contact qu'avec le verre, ce qui le rend préférable, ou même seul utilisable dans certains cas ¹.

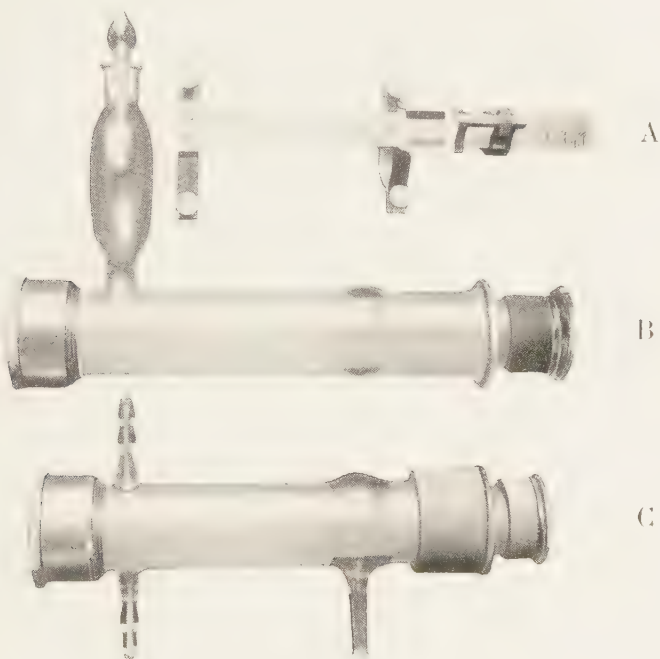


Fig. 11

Ces cuves sont complétées par l'adjonction d'un mécanisme servant à maintenir à une distance exactement déterminée et variable à volonté les deux rondelles de quartz entre lesquelles est comprise la couche liquide que traverse la lumière.

¹ Ces cuves ont été construites, à mon entière satisfaction, par la maison Jobin, de Paris. Leur prix a varié entre 80 et 90 francs, avec obturateurs en quartz. Le modèle que représente en coupe axiale la fig. 9 a été établi en juillet 1905.

Ce mécanisme (fig. 11 A) est constitué par une règle fixée à l'extrémité ouverte du corps de pompe et par un train de curseurs fixé à l'extrémité ouverte du piston (voir la fig. 10). La fixation se fait avec interposition de bagues en caoutchouc dur qu'enserrent les colliers formés chacun de deux demi-anneaux réunis par des vis.

La règle porte, sur une fraction de sa longueur, une division millimétrique (de 7 cm. de longueur, par exemple). Le système de curseurs comprend : un curseur fenêtré dont un des bords, taillé en biseau, forme vernier, et un autre curseur muni en dessous d'une vis de pression et rendu solidaire du premier par un écrou vissé sur la tige filetée qui prolonge le curseur à réglette. Le train de curseurs étant enfilé sur la règle, si on serre la vis de pression et tourne l'écrou moleté, on déplace le piston suivant l'axe. On le déplace plus rapidement, lorsque les épaisseurs consécutives diffèrent beaucoup, par simple glissement, la vis de pression étant desserrée ; quand l'écartement voulu est obtenu, on fixe le piston en serrant la vis. Si le mécanisme est construit et fixé correctement, le vernier doit marquer l'épaisseur 0 quand les faces internes des obturateurs de quartz sont en contact. Le vernier étant au dixième, on lit le dixième de millimètre et apprécie le vingtième : c'est là une précision amplement suffisante, car ordinairement on n'examine pas d'épaisseur inférieure à 1 mm. La liqueur est-elle trop concentrée, on la dilue suffisamment pour se placer dans les conditions d'épaisseur qui permettent les mesures les plus exactes. Remarquons que le mécanisme qui est utilisé pour la propulsion, la fixation du piston et la mesure de sa course lui sert aussi de guide, de façon à ce qu'une génératrice donnée du piston corresponde toujours à une même génératrice du corps de pompe. Il est indispensable que cette condition soit remplie pour obtenir la parfaite étanchéité de la cuve. Le constructeur marque par des entailles les génératrices qui doivent être maintenues en coïncidence.

Il y a avantage à employer un support de cuve spécial, tel que celui représenté fig. 10. Deux gouttières en laiton,

réunies latéralement par des vis, embrassent la cuve dans sa portion moyenne qu'entoure un manchon de caoutchouc. Ce système de gouttières est porté par une tige filetée à guidage dont la hauteur est réglable au moyen de l'écrou moleté qui termine la colonne dans laquelle elle pénètre. Enfin la colonne repose, par un patin rainé, sur une règle métallique formant banc d'optique. Il est commode d'avoir deux de ces bancs d'optique. L'un, celui représenté fig. 10, est fixé à une plaque de marbre munie de poignées : il sert au transport de la cuve montée. L'autre, notablement plus long, est à poste fixe ; il est orienté de façon à ce que l'axe du collimateur et l'axe de la cuve soient compris sensiblement dans un même plan vertical.

Sur la colonne on voit un collier immobilisé à la hauteur voulue par trois vis équidistantes. Ce collier présente deux bras terminés par des anneaux à vis servant à fixer des tiges qui supportent divers accessoires (réservoir, etc.)¹.

5. Conditions photographiques. — Voici la règle qui m'a dirigé dans le choix de ces conditions : obtenir des spectrogrammes suffisamment nets pour permettre des déterminations précises tout en exposant le moins longtemps possible à l'influence des rayons ultra-violets les corps dont on étudie le pouvoir absorbant. Il n'est pas douteux, en effet, que ces radiations, quand elles sont fortement absorbées, puissent exercer à la longue des actions chimiques énergiques et profondes. Je dois dire, pourtant, que cette influence ne s'est pas traduite d'une façon appréciable, dans les conditions où j'opérais, pour les corps que j'ai examinés. Bien

¹ Une remarque au point de vue historique :

Divers modèles de cuves tubulaires ont été imaginés depuis le lactoscope de Donné (1837), premier en date.

Mentionnons : l'hémoscope de L. HERMANN (*Pflüger's Archiv*, IV, 209, 1871) et la cuve de Baly et Desch (*Trans. chem. Soc.* LXXXV, 1029, 1904) ; ces modèles, qui semblent être les meilleurs qui aient été décrits jusqu'à présent, sont encore vraiment défectueux.

souvent, j'ai recommencé deux, trois fois et plus une même série spectrographique avec la solution précédemment exposée, et jamais je ne me suis aperçu de la moindre différence dans les résultats obtenus.

J'ai employé exclusivement, pour photographier les spectres d'absorption, les plaques Σ (de Lumière) au gélatino-bromure d'argent. L'émulsion Σ surpasse en sensibilité toutes les autres marques; elle a un grain très fin et très régulier, et fournit des clichés excessivement purs et transparents. Ces plaques sont fortement impressionnées par les radiations comprises entre λ 4810 Å et λ 2025 Å, qui constituent la portion la plus étendue du spectre que je me suis proposé d'examiner.

Pour les spectres d'émission qui servent à établir la table de conversion des déviations en longueurs d'onde, il est indispensable d'avoir des photographies d'une netteté irréprochable, et on gagne quelque chose à ce point de vue en se servant de plaques « anti-halo ». Les plaques extra-rapides (à étiquette bleue) de Lumière avec sous-couche rouge donnent d'excellents résultats ¹.

Le temps de pose est conditionné non seulement par la sensibilité des plaques, mais aussi par l'éclat du spectre.

On sait que l'éclat d'un spectre — dans le cas d'une lumière incidente d'intensité constante — est inversement proportionnel à sa pureté, et que sa pureté est inversement proportionnelle à la largeur des images de la fente.

Pour les spectres d'émission (servant à repérer), on doit rechercher avant tout une très grande pureté, ce qui conduit à réduire autant que possible la largeur de la fente. Pour les spectres d'absorption, il est préférable au contraire de perdre quelque chose en pureté pour augmenter l'éclat et diminuer ainsi la durée de la pose ². J'ai adopté, pour pho-

¹ Les plaques étaient développées dans un bain de rodinal, et fixées dans un bain d'hyposulfite de soude acide.

² Les conditions qui abrègent le temps de pose sont aussi avanta-

tographier les spectres d'absorption, une largeur de la fente constante et égale à 0^{mm},010. Il convient, pour les spectres d'émission, d'utiliser une largeur de fente de 0^{mm},001 à 0^{mm},005 seulement ¹.

Dans le cas des spectres d'émission, le temps de pose dépend de la largeur de la fente, du métal (ou des métaux) dont on photographie le spectre, de la portion du spectre qu'on veut obtenir avec le maximum de netteté.

Dans le cas des spectres d'absorption, j'ai adopté un temps de pose constant et égal à 30 secondes dans les conditions moyennes où j'opérais.

Avant de photographier les spectres d'absorption, je prenais toujours une première photographie du spectre d'émission, c'est ce que j'appelle le *spectre témoin* qui permet d'apprécier d'une façon approximative la valeur de l'éclairage. Je me suis efforcé de maintenir constante l'intensité de la source lumineuse ; mais, quand je n'y ai pas réussi suffisamment, j'ai dû, pour obtenir une impression équivalente de la plaque sensible, modifier de quelques secondes la durée d'exposition.

Au début de mes recherches, en rapprochant les résultats fournis par la photographie de ceux obtenus par Soret au moyen de l'observation avec l'oculaire fluorescent, j'avais cru qu'on rendrait ces résultats plus comparables et à peu près indépendants du mode d'acquisition en augmentant régulièrement d'une petite fraction le temps de pose quand l'épaisseur de la solution absorbante croissait. En examinant ce point de plus près et pour un plus grand nombre de

geuses en ce qu'elles réduisent l'échauffement de l'inducteur ; ce point est à considérer quand on fait un grand nombre de photographies consécutives.

¹ Je rappelle que je n'ai en vue, dans tout ce qui précède, que la région ultra-violette allant jusqu'à λ 2000 Å environ ; si on veut photographier les radiations de plus petites longueurs d'onde, les conditions sont différentes : il faut employer les plaques spéciales (sans gélatine) de Schumann, augmenter la largeur de la fente, rapprocher beaucoup les électrodes de la fente, etc.

corps, je me suis mis à douter qu'il en fût ainsi. Je me suis donc décidé à ne plus introduire dans la durée de la pose une augmentation forcément trop arbitraire. Il sera entendu, par conséquent, qu'à moins d'indication contraire, cette durée a été uniforme pour toute la série de spectres d'absorption, photographiés sur la même plaque.

J'ai pu déterminer très exactement le temps d'exposition, au moyen d'un chronoscope de Jaquet, grâce à la précaution que j'avais prise de placer la clef servant d'interrupteur dans une pièce autre que celle où était l'installation spectrographique; on évite ainsi la fatigue nuisible que causeraient l'éclat éblouissant et le bruit assourdissant du flux d'étincelles.

6. Réduction des observations en λ . — Cette réduction s'effectue au moyen des distances micrométriques des raies quand on connaît les longueurs d'onde de quelques-unes d'entre elles.

Les spectres du cadmium et du zinc présentent des raies faciles à identifier, grâce à leur intensité et à leur répartition, qui suffisent comme points de repères fondamentaux pour la région spectrale que nous avons en vue.

On a assigné à plusieurs de ces raies des numéros d'ordre et constitué de la sorte une échelle conventionnelle des radiations très réfringibles qui est adoptée par tous les spectroscopistes ¹. Les longueurs d'onde de ces raies (ou au moins de quelques-unes d'entre elles) ont été déterminées successivement, avec une précision toujours plus grande, par Mascart, Cornu, Hartley et Adeney, Liveing et Dewar, Kayser et Runge, Eder et Valenta, Exner et Haschek ².

¹ Cf. Annuaire du bureau des longitudes pour 1908, p. 608.

Les raies principales jusqu'au n° 25 ont été numérotées par Mascart; elles appartiennent au cadmium, sauf le n° 8 (à la limite du violet et de l'ultra-violet) qui est une raie de l'air. Les raies plus réfringibles ont été numérotées par Soret; le n° 26 est encore une raie du cadmium, les raies 27, 28 et 29 appartiennent au zinc.

² F. EXNER U. E. HASCHKE. ... Wellenlängen-Tabellen für spek-

Pour une première orientation, on utilise de préférence le spectre du cadmium.

Les deux conditions essentielles à réaliser pour que les mesures soient précises et exactes sont :

En premier lieu, posséder un spectrogramme aussi net et aussi fin que possible. On en obtient d'excellents en se conformant aux règles énoncées précédemment.

En second lieu, effectuer les mesures avec une machine très perfectionnée. Les machines à diviser les lignes droites conviennent parfaitement en disposant sur le chariot une platine pour recevoir les clichés. Le modèle de la « Société genevoise pour la construction des instruments de physique », que j'ai utilisé, a une vis de translation corrigée de manière à pouvoir garantir l'exactitude rigoureuse du centième de millimètre.

J'ai mesuré ainsi la distance — à partir d'un zéro arbitraire — des raies principales des spectres violets et ultraviolets du cadmium, du zinc et aussi du plomb, de l'air, etc.

En possession de ces valeurs, on peut déterminer approximativement la longueur d'onde d'une raie dont la distance est quelconque en se servant soit d'une formule d'interpolation, soit d'une courbe d'interpolation (interpolation graphique).

A. Formules d'interpolation. — Deux sont particulièrement convenables : celle de Gibbs et celle de Cornu-Hartmann.

*1^o formule de GIBBS*¹, — Soient x, x', x'' les nombres connus exprimant les distances linéaires de 3 raies qui se

tralanalytische Untersuchungen auf Grund der ultravioletten Funkenspektren der Elemente. Leipzig u. Wien, 1902.

Eder a publié de magnifiques reproductions par la photogravure (photocollographie) du spectre de ces différents métaux, qui sont extrêmement précieuses pour ce travail d'identification par comparaison.

¹ GIBBS. — *Sillimann's Journal of Science*, juillet 1870. Citation d'après SALET. — *Traité d'analyse spectrale*, 76, 1895.

suivent et dont la seconde est inconnue ; soient $\lambda, \lambda', \lambda''$ leurs longueurs d'onde ; on a :

$$\lambda'^2 = \frac{\frac{N'' - N}{\lambda''^2} - \frac{N}{\lambda^2}}{\frac{N'' - N'}{\lambda'^2} - \frac{N' - N}{\lambda^2}}.$$

S'agit-il d'une raie située en deçà ou au delà de deux autres connues, on a respectivement (par extrapolation) :

$$\lambda^2 = \frac{\frac{N'' - N'}{\lambda'^2} - \frac{N' - N}{\lambda''^2}}{\frac{N'' - N}{\lambda''^2} - \frac{N' - N}{\lambda'^2}};$$

ou

$$\lambda''^2 = \frac{\frac{N' - N}{\lambda^2} - \frac{N'' - N}{\lambda'^2}}{\frac{N'' - N'}{\lambda'^2} - \frac{N' - N}{\lambda^2}}.$$

2^e formule de CORNU-HARTMANN. — Hartmann ¹ a proposé une formule analogue à celle découverte antérieurement par Cornu², et qui lui est préférable parce qu'elle simplifie les calculs.

Soit à déterminer la longueur d'onde λ d'une raie dont la distance linéaire est s : on a :

$$\lambda = \lambda_0 + \frac{c^2}{s - s_0}.$$

Cette équation renferme trois constantes λ_0 , s_0 et c^2 qu'on détermine au moyen de 3 raies de longueurs d'onde connues λ_1 , λ_2 , λ_3 dont les distances linéaires, également connues, sont s_1 , s_2 , s_3 ; on a :

¹ HARTMANN. — Publicationen des astrophysik. Observat. in Potsdam, XII, suppl., 1898.

² CORNU. — Ann. Ecole norm. sup., IX, 21. 1880.

On trouvera des exemples d'applications numériques de la formule de Cornu dans SALET (loc. cit., 75) et de la formule de Hartmann dans NEGULGÉA (loc. cit., 165).

Cf. aussi EDER (loc. cit., 381) et KAYSER (op. cit., I. 324-329).

$$s_0 = \frac{s_1(\lambda_1 - \lambda_2)(s_3 - s_2) - s_3(\lambda_2 - \lambda_3)(s_2 - s_1)}{(\lambda_1 - \lambda_2)(s_3 - s_2) - (\lambda_2 - \lambda_3)(s_2 - s_1)} ;$$

$$c^2 = \frac{(\lambda_1 - \lambda_3)(s_1 - s_0)(s_3 - s_0)}{s_3 - s_1} ;$$

$$\lambda_0 = \lambda_1 - \frac{c^2}{s_1 - s_0} = \lambda_2 - \frac{c^2}{s_2 - s_0} = \lambda_3 - \frac{c^2}{s_3 - s_0}$$

J'ai calculé, par l'une et par l'autre de ces deux formules, les longueurs d'ondulation d'un certain nombre de raies du spectre du fer et de celui de l'alliage d'Eder pour bien m'assurer que je n'avais pas commis d'erreur en identifiant les raies.

L'approximation a toujours été très satisfaisante et absolument probante.

B. Interpolation graphique. — La courbe représentant la dispersion prismatique en fonction de la variation de longueur d'onde conduit plus rapidement au même résultat; elle est facile à tracer quand on possède un certain nombre de repères (lignes Standards) convenablement distribués.

J'ai établi plusieurs de ces courbes à diverses échelles et pour les différentes portions du spectre photographié. Celle que j'emploie le plus couramment est à une échelle assez réduite et s'étend de Cd 4799 Å (raie bleue) à Cd 2265 Å seulement ¹.

La courbe en question a été construite en portant en ordonnées les longueurs d'onde — à l'échelle de 1 millim. pour 5 unités d'Angström; et en abscisses les distances micrométriques — à l'échelle de 1 millim. pour 1 dixième de millim. d'écartement des raies sur la plaque.

¹ Le prolongement de la courbe pour la portion plus réfrangible (jusqu'à λ 2100 Å) est, en effet, absolument superflu, car, sur mes spectrogrammes, l'absorption y est toujours limitée par des raies de l'alliage d'Eder qu'on identifie avec certitude à première vue.

Considérons uniquement le segment de la courbe qui représente la partie ultra-violette du spectre (de λ 3960 Å à λ 2265 Å): les raies extrêmes y sont distantes de 339 millim. sur l'axe des y et de 753 millim. sur l'axe des x; et, comme la différence de λ entre ces raies est de 1695 Å, une distance linéaire de 1mm. sur l'axe des x (soit 0,1mm. sur la plaque) correspond *en moyenne*, pour cette région ultra-violette, à 2,25 Å. Pour les groupes extrêmes comprenant chacun 100 Å, ce même rapport présente les *valeurs moyennes* de 1mm. pour 5,55 Å (de 3960 Å à 3860 Å) et de 1mm. pour 1,00 Å (de 2365 Å à 2265 Å).

7. Mesurage des spectrogrammes d'absorption. —

En procédant par interpolation, comme il vient d'être dit, on arrive aisément à identifier toutes les *raies principales* du spectre d'émission considéré — spectre formé, dans le cas actuel, de lignes appartenant au cadmium, au zinc, au plomb, au fer et à l'air.

Remarquons que, presque toujours, sur les spectrogrammes d'absorption, les raies marginales sont précisément ces raies relativement brillantes; or, comme les longueurs d'onde de ces raies sont actuellement connues avec une exactitude qui atteint au moins le cent-millième de micron, on pourrait indiquer avec le même degré de précision les limites des zones absorbées.

Une telle précision semble, il faut le dire, dépourvue de toute signification lorsqu'il s'agit des spectres d'absorption que nous avons en vue; et il faut ajouter qu'elle serait, dans les conditions présentes, tout à fait illusoire: on s'en rend compte en voyant combien la limite de l'absorption dépend de l'intensité relative des raies, si difficile à apprécier correctement.

Pour les déterminations absorptiométriques que nous avons en vue, on pourrait se contenter à la rigueur de la précision du millième de micron; mais il vaut mieux pousser la précision jusqu'au dix-millième de micron, c'est-à-dire jusqu'à l'unité d'Angström qui est, comme il a déjà été dit (p. 11,

en note), l'unité de longueur d'onde unanimement adoptée maintenant par les spectroscopistes. J'ai donc toujours exprimé les longueurs d'onde en unités d'Ångström. Evidemment, si on ne commet pas d'erreur dans l'identification des raies, on est assuré de l'exactitude des valeurs trouvées à l'unité d'Ångström près. J'ai constaté que, dans la région ultra-violettes examinée, pour la plupart des raies du spectre d'émission utilisé, il suffit de mesurer les distances sur la plaque au 10^e de mm. près pour être certain de ne pas commettre d'erreur dans le travail d'identification, à condition de se servir d'une courbe d'interpolation établie comme celle décrite ci-dessus ; cela est dû à l'aspect particulier que présentent un très grand nombre de raies ¹. Dans les cas douteux, qui sont exceptionnels encore une fois, il faut recourir à l'interpolation au moyen d'une des formules précitées et mesurer au besoin les distances avec une plus grande précision.

Pour mesurer les distances au 10^e de mm. près seulement (avec appréciation du 20^e), j'ai fait construire un appareil spécial qui est beaucoup plus commode que la machine à diviser et relativement peu coûteux : c'est une modification du microscope de Nebelthau ². La platine se compose d'une plaque de verre fixée dans un cadre qui repose sur quatre colonnes ; elle se meut d'avant en arrière sur deux glissières au moyen de pignons et de crémaillères. Le déplacement est mesuré sur une règle divisée en millimètres par un vernier au dixième. Le cliché est maintenu dans une position convenable, qu'on pourra toujours retrouver immédiatement, grâce à un système de butoirs formé de deux valets qui s'engagent par leurs bases dans la rainure en queue d'aronde d'une règle fixée par ses rebords latéraux au cadre de la platine. L'un de ces valets est immobilisé par une vis dans une position repérée ; il forme avec la règle équerre d'appui.

¹ Différences de groupement, d'intensité, de finesse (raies déliées, diffuses ou nébuleuses), etc.

² NEBELTHAU. — *Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie*, XIII, 417, 1896.

L'autre valet est mobile et vient s'appliquer par son bord interne sur la tranche du cliché opposée à celle qui butte contre le valet fixe (voir la figure 13).

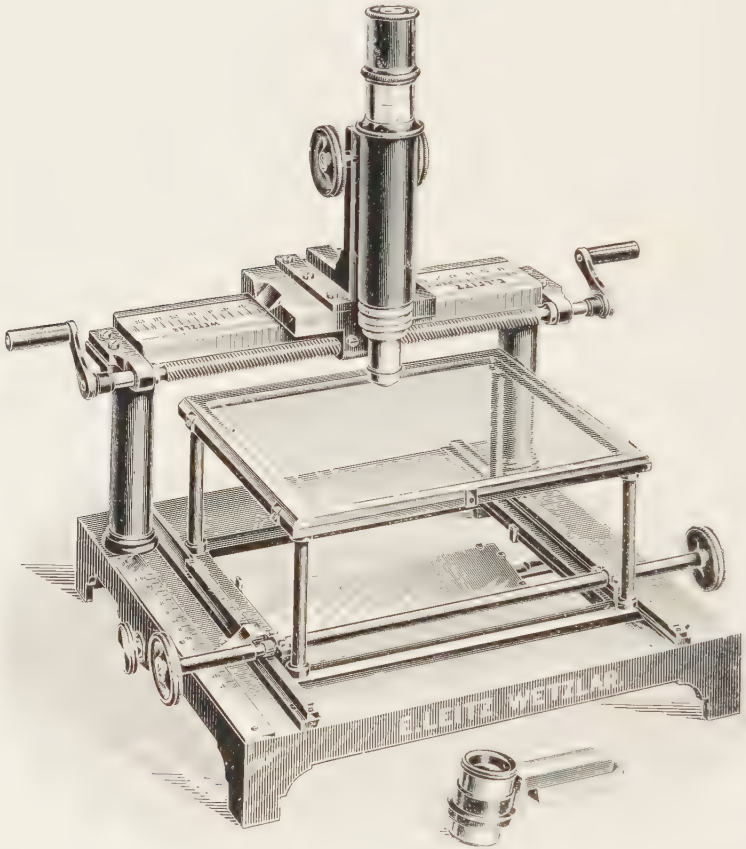


Fig. 12 — Microscope à glissière de Nebelthau.

Une glissière, au-dessus de la platine, supporte le microscope; celui-ci se meut transversalement à l'aide d'une manivelle. L'oculaire est pourvu d'un micromètre présentant un trait diamétral que l'on amène successivement, en tournant la manivelle, en coïncidence avec le milieu de chacune des

raies à mesurer. La distance réciproque de chacune de ces raies est lue sur la division millimétrique de la glissière au moyen d'un vernier au dixième. On doit apprécier le 20^e de mm., en s'aidant d'une loupe au besoin.

Le disque micrométrique porte aussi un trait diamétral perpendiculaire au premier, plus gros que lui, et interrompu au centre. Il sert d'index pour marquer le spectre que l'on mesure.

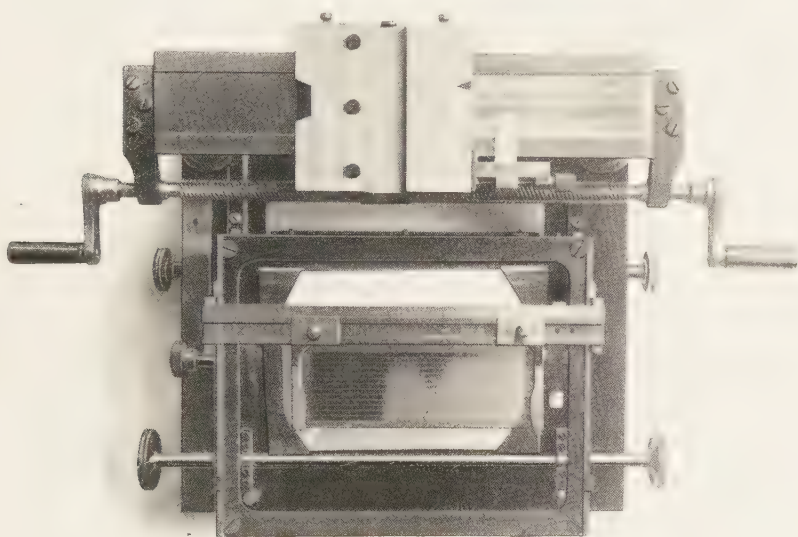


Fig. 13

Comme les distances qui existent entre une raie de longueur d'onde donnée et les tranches latérales de la plaque varient notablement d'un cliché à un autre, il en résulte que, pour une même raie, on obtient des distances micrométriques différant en valeur absolue quand on passe d'un cliché à un autre. L'écart, quoique bien moindre, est néanmoins souvent appréciable quand on passe d'un spectre à un autre sur un même cliché.

C'est là une complication qu'on évite en déplaçant au besoin la règlette, de façon à obtenir que la raie, à partir de

laquelle sont comptées les distances, coïncide toujours avec une division déterminée. Le déplacement de la règle est commandé par une vis de rappel et est mesuré par un vernier.

J'emploie comme système optique un objectif 1a (de Leitz), soigneusement corrigé, dont le grossissement, modifiable par le déplacement des deux lentilles doubles, varie, avec l'oculaire 0, de 6 à 9 diamètres. On embrasse ainsi un champ relativement étendu, ce qui est avantageux pour mesurer les spectres d'absorption.

L'éclairage du cliché se fait au moyen d'une plaque de porcelaine blanche servant de réflecteur.

8. Reproduction des spectrogrammes. — Toutes les reproductions de spectres que je publie ont été obtenues *sans aucune retouche* au moyen de la photogravure (similigravure).

Il va sans dire que ces reproductions, quelque soignées qu'elles soient, ne peuvent égaler en finesse les épreuves copiées qui, elles-mêmes, sont inférieures, à ce point de vue, aux clichés originaux. Malgré leurs imperfections, je crois que ces reproductions constituent des documents très instructifs, et c'est pourquoi je les ai insérées en si grand nombre dans le présent travail.

Les dimensions linéaires des reproductions sont à celles des originaux dans le rapport de 99 à 115 ; les spectrogrammes ont donc subi une légère réduction lors de la reproduction.

CHAPITRE II

Absorption des rayons ultra-violet par les albuminoïdes et leurs dérivés.

9. Aperçu historique. — Soret a publié en 1883¹ un très important mémoire dans lequel il a réuni les observations qu'il a faites sur l'absorption des rayons ultra-violet par diverses substances entrant dans la constitution de l'organisme animal. L'origine de ces recherches fut l'étude de la transparence des milieux de l'œil pour les rayons très réfrangibles. Soret constata que l'humeur aqueuse et l'humeur vitrée présentent un spectre caractérisé par une bande d'absorption prononcée coïncidant avec les raies 16 à 18 du cadmium, suivie d'une bande de transparence relative sur la raie 22. Il chercha alors à reconnaître quelle est la substance qui produit le spectre d'absorption de ces humeurs de l'œil, et présuma qu'elle devait appartenir au groupe des corps albuminoïdes. Il fut amené ainsi à examiner les propriétés d'absorption d'un grand nombre de matières albuminoïdes : ovalbumine, sérumalbumine, myosine, protalbine, pepsino-pseudo-peptone, pancro-pseudo-peptone, etc.

Cette étude, bien que n'ayant pas conduit à la solution du problème posé, fut par ailleurs féconde en résultats du plus haut intérêt. Bornons-nous, pour le moment, à noter

¹ J.-L. SORÉT : *Recherches sur l'absorption, etc.* (Cinquième mémoire). — Arch. des sciences phys. et nat., 3^e période, X, 429-495. 1883.

que Soret pût conclure de ses recherches que « toutes les substances albuminoïdes examinées sont caractérisées par une bande d'absorption sur 17^1 , suivie d'une bande de transparence sur 18^2 , et qu'elles sont de plus très absorbantes à partir de 22^3 ».

Dans le mémoire que nous analysons, Soret, après avoir relaté ses observations sur le spectre d'absorption des albuminoïdes, expose les résultats qu'il obtint en examinant au même point de vue « quelques corps dérivés de l'albumine ou pouvant l'accompagner ». « La difficulté de préparation « des substances albuminoïdes, dit-il au début de cet exposé, « laisse des doutes sur leur pureté, et l'on peut se demander « si leur spectre ne doit pas être attribué à quelque substance étrangère qui se retrouverait dans tous les produits. « D'autre part, si c'est bien à un principe entrant dans leur « constitution, et non à une impureté, que sont dues leurs « propriétés d'absorption, la marche à suivre pour déterminer « la nature de ce principe consiste évidemment à rechercher « si, parmi les corps dérivés de l'albumine, il s'en trouve « quelques-uns qui présentent les mêmes caractères optiques. « Dans ce but, j'ai entrepris l'étude des substances présentant « des relations de constitution chimique avec l'albumine, ou « se rencontrant souvent avec elle dans les liquides d'origine « animale. Les corps qui rentrent dans l'une ou l'autre de « ces catégories sont si nombreux qu'il est à peine nécessaire de le dire, je suis loin d'avoir effectué ce travail d'une manière complète. Je vais néanmoins passer en revue les produits que j'ai eu l'occasion d'étudier en les divisant en trois séries :

« La première comprend les substances assez transparentes pour que l'on puisse conclure avec certitude qu'elles ne peuvent avoir d'influence sur les faits relatés dans les précédents chapitres de ce mémoire

¹ $\lambda = 2749 \text{ \AA}$.

² $\lambda = 2573 \text{ \AA}$.

³ $\lambda = 2321 \text{ \AA}$.

[ce sont ¹: le sucre de canne, le sucrate de chaux, le glycose, l'urée, le biuret, la taurine, le chlorhydrate de glyco-colle, l'alanine];

« la seconde comprend les corps plus absorbants, mais « sans caractère électif déterminé »

[ce sont: le chlorhydrate de leucine, la leucine, l'acide hippurique, l'allantoïne, l'alloxane, le cholalate de soude, le glycocholate de soude, le taurocholate de soude];

« la troisième comprend les corps dont le spectre est « franchement caractérisé par des bandes d'absorption »

[ce sont: l'acide urique, l'acide oxalurique, le cyanate de potassium, la sarcine, le chlorhydrate de sarcine, le chlorhydrate de xanthine, la tyrosine et l'hydroquinone — ce dernier corps examiné par Soret à cause de son analogie de constitution avec la tyrosine].

Soret, ayant remarqué (avec Danilewski) que l'addition de soude aux substances albuminoïdes modifie profondément leurs spectres d'absorption, étudia l'influence exercée par la soude sur les propriétés absorbantes de la plupart des corps appartenant à la troisième série. Il reconnut que les courbes d'absorption de la tyrosine et de l'albumine, soit à l'état naturel, soit après addition d'alcali, présentent une grande ressemblance. Nous aurons à revenir sur ce fait intéressant.

En 1887, Hartley ² confirma l'existence d'une bande d'absorption ultra-violette pour l'albumine pure, pour la caséine et pour la sérine (sérumalbumine).

En 1899, Blyth ³ fit paraître un mémoire « sur le spectre d'absorption des protéides (protéiques) par rapport à la tyrosine ». Il observa que l'albumine d'œuf, la sérum-

¹ J'énumère entre crochets les corps de chacune des trois séries examinés par Soret.

² W.-N. HARTLEY: *Spectroscopic Notes on the Carbohydrates and Albuminoids from Grain*. — *Journ. of the chemic. Society*, LI (Transactions), 58, 1887.

³ A.-W. Blyth. — *Loc. cit.*

albumine, la caséine animale, la caséine végétale, la peptone de Witte — toutes substances d'où on peut retirer de la tyrosine par un traitement approprié — présentent dans l'ultra-violet une bande d'absorption pratiquement identique à celle de la tyrosine. L'auteur dit être à peu près certain que la bande d'absorption des substances protéiques précitées est due à ce que la tyrosine entre dans leur constitution. Il rapporte ensuite les résultats qu'il a obtenus en observant quelques autres protéiques. Une albumose préparée d'après les indications de Schrötter ¹ ne montrait aucune absorption sélective. Une toxalbumine diphtérique présentait la bande habituelle des albuminoïdes. Une autre toxalbumine, provenant d'un cas d'endocardite ulcéreuse, donnait au contraire un spectre d'absorption continu. Enfin des gélatines de différentes provenances n'offraient pas non plus d'absorption sélective. (Notons que la grande transparence relative de la gélatine avait été déjà signalée par Soret, Hartley et Schumann.)

En terminant, l'auteur dit que les corps protéiques pourraient être divisés convenablement en deux catégories au point de vue chimique : ceux qui donnent la bande d'absorption de la tyrosine et ceux chez lesquels cette bande est absente, division qui correspond à une profonde différence dans la constitution de la molécule.

10. Critique des travaux de Soret, Hartley et Blyth.

— Comme on l'a vu par le passage cité plus haut, Soret ne s'illusionnait pas sur le degré de pureté des substances albuminoïdes qu'il avait examinées et se demandait si leur spectre ne devait pas être attribué à quelque substance étrangère qui les souillerait. Quand on songe au pouvoir absorbant extrêmement intense de certains principes physiologiques (l'acide urique, par exemple), on comprend toute la valeur de l'objection précédente. Elle atteint les travaux de

¹ H. SCHRÖTTER. — Monatshefte f. Chem., XIV, 612, 1893.

Hartley et de Blyth tout autant que ceux de Soret, car les auteurs anglais ne se sont pas suffisamment préoccupés de la purification des matières albuminoïdes avec lesquelles ils ont opéré.

Hartley avance bien qu'il a examiné de l'*albumine pure* ; mais, comme il se contente de l'énoncer sans indiquer la provenance de son produit, ni les moyens de purification employés, on ne peut prendre son dire en sérieuse considération — d'autant plus qu'il mentionne, au début de son mémoire, que ses solutions étaient si troubles qu'il a éprouvé de ce fait beaucoup d'ennuis. Ajoutons qu'il ne donne les limites de la bande d'absorption que pour une épaisseur unique d'une seule dilution.

Blyth dit simplement qu'il purifia de l'albumine par des précipitations répétées (avec quelle substance précipitante ?), et qu'après plusieurs filtrations sur du papier durci il obtint une liqueur presque limpide. Hartley et Blyth ne donnent aucun renseignement sur la préparation des autres substances protéiques qu'ils ont examinées.

Ces quelques remarques démontrent assez combien il était désirable qu'on sût à quoi s'en tenir sur le spectre des substances albuminoïdes vraiment pures. Or, actuellement, on possède des techniques perfectionnées permettant d'isoler des substances albuminoïdes parfaitement pures au point de vue qui nous intéresse ; c'est-à-dire absolument exemptes de corps étrangers pouvant exercer une action absorbante, bien que constituées peut-être, dans certains cas, par des mélanges d'espèces très voisines. Je décrirai plus loin les résultats que j'ai obtenus en étudiant d'une façon aussi complète que possible l'absorption des rayons ultra-violets par quelques substances albuminoïdes rigoureusement purifiées et exactement définies (ovalbumine, sérumalbumine, édestine cristallisées, globine de l'oxyhémoglobine cristallisée, etc.). Qu'il me suffise, pour le moment, d'annoncer que mes recherches établissent que la bande d'absorption ultra-violette que montrent les substances albuminoïdes appartient bien en propre à ces substances.

Nous savons que Soret et Blyth ont cherché comment on pouvait interpréter le spectre à bande des matières albuminoïdes et qu'ils sont arrivés, tous deux, à la conclusion qu'on devait le rapprocher du spectre très analogue de la tyrosine. Blyth, dont le mémoire est postérieur de seize ans à celui de Soret, paraît avoir ignoré complètement les travaux de son devancier sur ce point. Il est plus affirmatif que lui, bien que ses observations soient moins concluantes. Il constate, en effet, qu'une toxalbumine et qu'une albumose¹ (qui donne, d'après lui, *toutes les réactions ordinaires d'une albumine*) ne présentent pas de pouvoir absorbant sélectif. Comme rien ne prouve l'absence du groupement de la tyrosine dans les corps précédents, ces résultats négatifs semblent s'opposer à l'acceptation de la conclusion formulée par Blyth. Ce que l'on doit aussi reprocher à cet auteur, c'est d'avoir complètement négligé l'étude des propriétés absorbantes des autres groupements qui prennent part à la constitution des substances albuminoïdes. A ce point de vue, le travail de Soret est bien supérieur. Soret a examiné un grand nombre de dérivés des substances albuminoïdes et il a, de plus, étudié comparativement les modifications apportées aux caractères spectraux de ces dérivés et à ceux des albuminoïdes par le changement de réaction (alcalinisation ou acidification); enfin, les conclusions qu'il tire de ses recherches si étendues sont pleines d'une judicieuse réserve. Après avoir, d'une part, noté les ressemblances et les différences qui

¹ On obtient cette albumose (de SCHRETTEN) en ajoutant à 100 gr. de peptone de Witte, dissous dans de l'eau acidifiée par SO^4H^2 , 200 grammes de poudre de zinc et 300 gr. d'acide sulfurique. On laisse reposer 1 jour, puis chauffe au bain-marie pendant 4 heures; on sépare par filtration le zinc non dissous, ajoute à la liqueur de la baryte jusqu'à alcalinité et sature l'excès de baryte par CO^2 . La liqueur filtrée est évaporée à siccité. Le résidu jaunâtre est partiellement soluble dans l'alcool méthylique chaud. En ajoutant de l'éther à l'extrait alcoolique, on précipite l'albumose. La solution de cette albumose (?) additionnée de réactif de Millon se colore en rouge et laisse bientôt déposer un précipité rouge.

existent entre le spectre de l'albumine et celui de la tyrosine, et, d'autre part, constaté l'analogie des spectres de la tyrosine et de l'hydroquinone qui possèdent en commun le groupe *paraoxyphényle*, il ajoute : « d'après les belles recherches de Hartley et Huntington, quelques autres corps de la série aromatique présentent des spectres d'absorption qui ne sont pas sans analogie avec celui de l'albumine ; il serait donc prématuré de s'arrêter à une conclusion positive, avant une étude plus complète de cette catégorie de composés ».

Vingt-cinq ans se sont écoulés depuis la publication du remarquable mémoire de Soret. Pendant cette période, notre connaissance de la constitution des matières albuminoïdes a fait des progrès considérables. On a découvert plusieurs dérivés qui semblent constituer des noyaux très importants de la molécule albuminoïde (arginine, lysine, histidine, proline, tryptophane, etc.). On a reconnu, par contre, que certains corps, qu'on présumait autrefois provenir de l'albumine, n'en dérivent pas. Tel est le cas pour l'acide urique : Soret, ayant observé que le spectre de l'acide urique offre de l'analogie avec celui de l'albumine, avait discuté l'hypothèse de l'existence d'un noyau commun qui expliquerait cette ressemblance. Cette supposition, parfaitement légitime alors, nous apparaît maintenant comme inadmissible. Par conséquent, notre position n'est plus du tout la même en face du problème posé, ce qui nous impose évidemment de reprendre l'étude de la question. D'ailleurs, même à l'époque où a paru le travail de Soret, il eût été nécessaire de reprendre cette étude pour la compléter (Soret avait omis d'examiner certains dérivés essentiels déjà connus) et pour la rectifier (Soret s'était contenté quelquefois d'examiner des corps manifestement impurs).

Entre les principes albuminoïdes naturels et leurs dérivés éloignés (non albuminoïdes) dont nous venons de parler, il existe tout un ensemble de corps intermédiaires : les albuminoïdes de transformation hydrolytique. Quelques-uns d'entre eux ont déjà été examinés par Soret et par Blyth, mais dans des conditions qui laissent beaucoup à désirer. Blyth, par exemple,

a décrit le spectre d'une solution dans l'eau de ce mélange complexe de protéoses qu'est la peptone de Witte ; or, dans l'eau pure, on n'obtient qu'une solution très incomplète à cause de la présence d'hétéroprotéose. Quant aux produits examinés par Soret, ils étaient très mal définis, et la concentration des solutions restait indéterminée. Le programme des recherches à effectuer dans ce sens était donc tout tracé : il fallait observer les spectres des principaux termes échelonnés de l'hydrolyse des substances albuminoïdes naturelles (proto- et deutéroprotéoses, amphopeptone, anti-peptone) et déterminer les propriétés absorbantes de chacun de ces corps, en n'opérant, autant que possible, qu'avec des liqueurs titrées et sous des épaisseurs mesurées.

Je passe maintenant à l'exposé des résultats que m'a fournis l'étude de l'absorption des rayons ultra-violetts :

1^o par les substances albuminoïdes naturelles ;

2^o par les substances albuminoïdes de transformation hydrolytique ;

3^o par les dérivés non albuminoïdes des substances albuminoïdes.

§ 1. — Absorption des rayons ultra-violetts par les substances albuminoïdes naturelles.

11. A. — Spectres des albumines.

a. Ovalbumine cristallisée. — Les cristaux ont été préparés en suivant les indications données par Hopkins¹ et par Cohn². Les blancs de quelques œufs pondus le jour même furent, après filtration sur étamine, additionnés d'un volume égal au leur d'une solution saturée de sulfate d'ammonium³ ; et le tout fut battu en neige. Quinze heures plus

¹ F. GOWLAND HOPKINS : *On the separation of a pure Albumine from Egg-White*. — Journ. of Physiol., XXV, 306, 1900.

² M. COHN : *Notiz zur Darstellung kristallinischer Eiweisstoffe*. Zeitschr. f. physiolog. Chem., XLIII, 41, 1904-05.

³ On ne doit employer que du sulfate d'ammonium soigneusement purifié, car le sulfate de qualité ordinaire contient souvent un peu de picoline qui, comme Soret l'a observé (Arch. des sc. phys. et nat., 3^e période, IX, 547, 1883), absorbe les rayons compris entre les raies 17

tard, on sépara par filtration la liqueur du précipité de globulines et on ajouta à la liqueur de l'acide acétique à 10 p. 100 dans la proportion de 2 cc. pour 100 cc. de la solution d'albumine : la liqueur devint aussitôt fortement laiteuse. En prélevant immédiatement quelques gouttes du liquide trouble, on observa au microscope (gr. = 400) qu'il y avait production d'un fin et abondant précipité amorphe. Au bout d'un quart d'heure, l'examen répété permit de constater par places un début de cristallisation; au bout d'une heure, la cristallisation était presque complète; au bout de vingt-quatre heures, il n'y avait plus trace de particules amorphes. Les cristaux étaient constitués de fines aiguilles souvent groupées en rosettes. Ils furent séparés des eaux mères par centrifugation, lavés avec une solution demi-saturée de sulfate d'ammonium contenant 1 p. 1000 d'acide acétique, séparés des eaux de lavage par centrifugation et dissous dans l'eau distillée dans laquelle ils sont très solubles. La liqueur obtenue était rigoureusement incolore. On ajouta à cette liqueur de la solution de sulfate d'ammonium saturée, jusqu'à production d'un fin précipité persistant. Au bout de vingt-quatre heures environ, le précipité — formé exclusivement de cristaux aciculaires — fut séparé, lavé et redissous comme la première fois. On soumit la liqueur à la dialyse dans un courant d'eau distillée, à basse température, jusqu'à élimination des dernières traces de sulfate (ce qui exigea 72 h.).

D'après Hopkins, l'albumine ainsi recristallisée est chimiquement pure et absolument homogène; son pouvoir rotatoire a pour valeur : $[a]_D = -30^{\circ},7$. Sa composition centésimale est : C 52,75; H 7,12; N 15,43; S 1,57; Cendres 0,06; O 23,07.

Cette solution d'albumine dialysée était faiblement, mais nettement acide au tournesol ¹ et très légèrement opalescente.

et 22. Le sulfate pur de Kahlbaum, que j'ai employé, est parfaitement transparent. J'ai constaté qu'une solution en renfermant 30 gr. par litre éteignait seulement la raie 28 (λ 2063) sous l'épaisseur de 15 mm.; et la raie 27 (λ 2100) sous l'épaisseur de 45 mm; il n'y avait aucun affaiblissement appréciable des raies moins réfrangibles.

¹ D'après A. GAUTIER (Leçons de chimie biologique, 83, 1897), l'albumine dialysée rougit le tournesol et peut être désignée sous le nom d'*acide albuminique*.

TH. OSBORNE (Zeitschr. f. physiolog. Chem., XXXIII, 242, 1901) a trouvé que, pour rendre neutre au tournesol 1 gr. de diverses substances

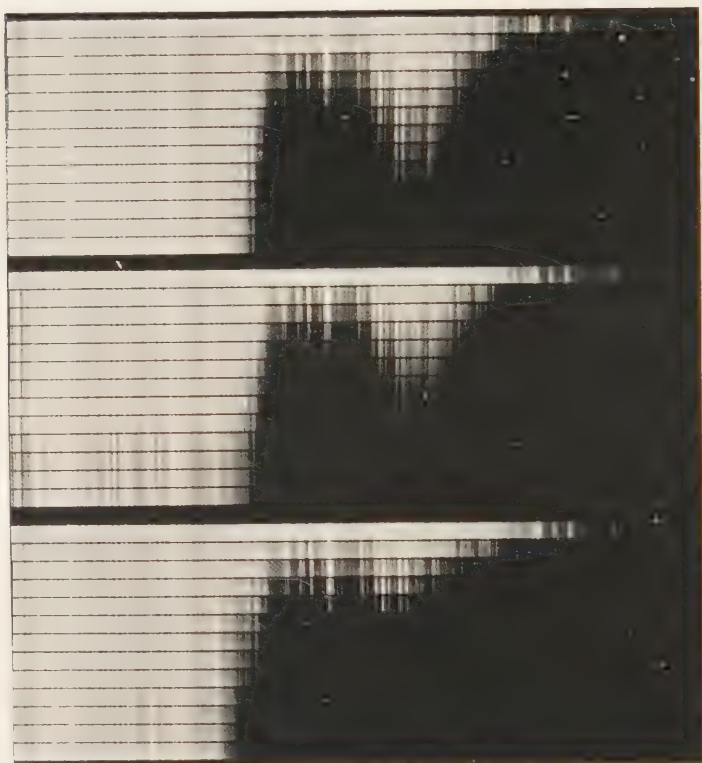
Le résidu de l'évaporation de 10 cc. pesait (après dessiccation à poids constant à 110°) 0^{gr},3914. La calcination ne laissa pas de cendres visibles.

L'examen du spectre d'absorption a été fait avec la solution décime successivement : normalement acide α), neutralisée β) et alcalinisée γ). Voici la reproduction des spectrogrammes obtenus.

Fig. 14
Ovalbumine
acide.

Fig. 15
Ovalbumine
neutre.

Fig. 16
Ovalbumine
alcaline.



Les données numériques se rapportant à chacun de ces spectres sont contenues dans les tableaux suivants :

albuminoïdes pures — parmi lesquelles l'ovalbumine cristallisée préparée par le procédé de Hopkins — il fallait y ajouter de 0cc,1 à 1cc,5 d'une solution d'alcali décimale.

Cf. aussi E. G. WILLCOCK : *Crystalline Egg-Albumine*. — *Journ. of Physiol.* XXXVII, 35. 1908.

a) *Ovalbumine acide*. — Concentration : 3^{er},914 par litre.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2288
3	(2873 — 2667)	2344
5	(2873 — 2665)	2365
7	(2873 — 2663)	2382
9	(2881 — 2663)	2394
11	2881 — 2628	2405
13	2927 — 2628	2444
15	2927 — 2614	2470
17	2948 — 2607	2476
19	2949 — 2599	2493
21	2981 — 2573	2502
23		2981

N. B. — ÉPAISSEUR indique l'épaisseur de la couche liquide traversée par la lumière.

BANDE D'ABSORPTION indique les raies qui délimitent la bande d'absorption. La parenthèse signifie qu'il y a obscurcissement dans la région désignée, mais non extinction des raies les plus brillantes.

DERNIÈRE RAIE indique la raie extrême transmise.

Les **longueurs d'onde** sont toujours exprimées en **unités d'Ångström**.

β) *Ovalbumine neutre*. — Concentration : 3^{er},914 par litre. Neutralisation par NaOH avec le papier de tournesol comme indicateur. Solution à peine opalescente. Le titre en albumine est exactement le même que pour l'ovalbumine acide, car la

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1	(2873 — 2667)	2329
3	(2873 — 2665)	2365
5	(2881 — 2663)	2394
7	(2881 — 2663)	2428
9	2927 — 2628	2444
11	2927 — 2628	2445
13	2948 — 2614	2470
15	2949 — 2599	2476
17	2981 — 2573	2493
19		2981
21	—	2981
23	—	2981

neutralisation a porté sur 10 cc. de la solution mère que l'on avait étendus à un volume un peu inférieur à 100 cc. On a complété à 100 cc., après seulement que la neutralisation était obtenue.

N.B. — A moins d'indication contraire, on a toujours procédé ainsi quand un corps a été examiné à un même degré de concentration en milieux de réactions différentes.

γ) Ovalbumine alcaline. — Concentration : 3^{gr},914 par litre. Solution contenant 10cc. de soude normale (soit 0^{gr},4 NaOH) par litre. Il s'agit donc d'une solution d'albumine neutre dans la liqueur de soude N^o100¹. Alcalinité franche au tournesol; liqueur parfaitement limpide.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1	(2873 — 2748)	2313
3	(2873 — 2748)	2365
5	(2881 — 2667)	2394
7	(2927 — 2665)	2445
9	2944 — 2663	2476
11	2949 — 2663	2493
13	2949 — 2614	2558
15	2981 — 2599	2573
17	2981 — — — — — >	2981
19	—	2981
21	—	3018
23	—	3018

b. Sérumalbumine cristallisée. — Du sang de cheval défibriné fut filtré sur étamine, puis centrifugé; on décanta le sérum auquel on ajouta un volume égal au sien de solution de sulfate d'ammonium saturée. On abandonna au repos pendant quelques heures et distribua alors le sérum sur plusieurs filtres qui retinrent le précipité de globulines. Le filtrat fut additionné d'acide sulfurique N 5 dans la proportion de 10 cc. à peu près pour 100 cc. de la liqueur. On observa le lendemain un assez abondant dépôt d'aspect nettement cristallin déjà à l'œil nu; au microscope (gr. = 400), le dépôt apparut constitué de cristaux parfaitement nets et

¹ Une solution de soude N 100 éteint la raie λ 2100 sous l'épaisseur de 10 mm. et la raie λ 2139 sous l'épaisseur de 40 mm.

réguliers, relativement gros, généralement isolés, mélangés de rares particules de substance amorphe. Les cristaux furent séparés des eaux mères par centrifugation, lavés avec une solution demi-saturée de sulfate d'ammonium contenant 10 cc. d'acide sulfurique normal par litre ¹, et dissous dans l'eau distillée. On filtra pour éliminer un léger résidu amorphe qui restait insoluble. On versa, dans la liqueur, de la solution de

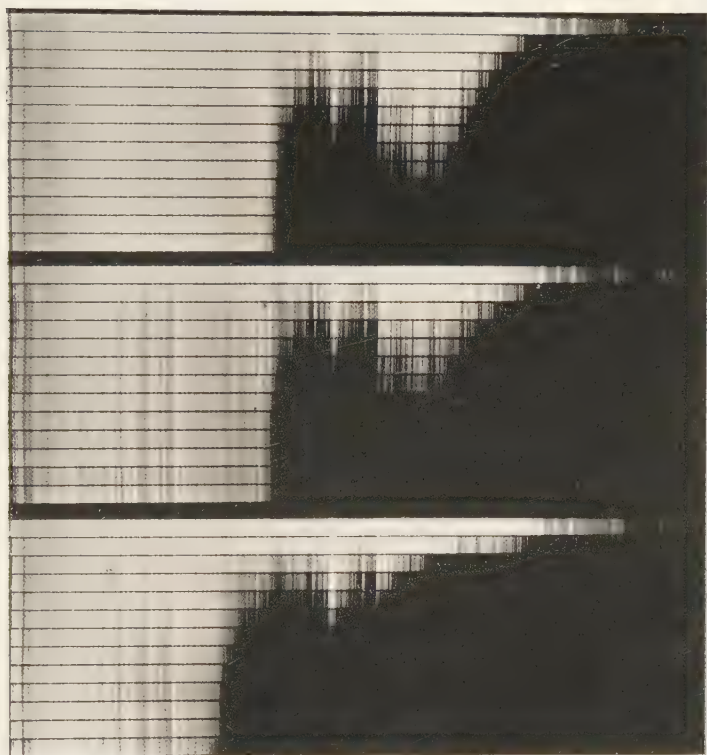


Fig. 17
Sérum-
albumine
acide.

Fig. 18
Sérum-
albumine
neutre.

Fig. 19
Sérum-
albumine
acide.

sulfate d'ammonium saturée jusqu'à production d'un trouble laiteux. On obtint ainsi, au bout de quelque temps, une nouvelle cristallisation. L'examen microscopique, pratiqué le lendemain, montra que les cristaux étaient exempts de toute trace de matière amorphe. Ces cristaux, séparés des eaux mères, furent lavés comme la première fois et redissous dans

¹ J'ai constaté que cette solution n'altère pas la forme des cristaux.

l'eau distillée. Cette liqueur fut dialysée dans un courant d'eau distillée, à la glacière, jusqu'à ce qu'il n'y eût plus d'entraînement de sulfate ; elle fut alors recueillie. Elle était parfaitement limpide et incolore, à peine opalescente, nettement acide au tournesol. Le résidu de l'évaporation de 10 cc. pesait, après dessiccation à poids constant (à 110°), 0^{gr},1108. La calcination laissa des traces de cendres (présence de chaux, absence de fer). Avant l'emploi, la liqueur précédente fut étendue d'un volume d'eau distillée égal au sien (ou double du sien, suivant le cas).

D'après Michel ¹, le pouvoir rotatoire de la sérumalbumine cristallisée oscille entre $[\alpha]_D = -61^\circ$ et $[\alpha]_D = -61^\circ,2$; sa composition centésimale est : C 53,07 ; H 7,13 ; N 15,93 ; S 1,912 ; O 21,938 ; Cendres 0,16.

Notons la différence suivante, signalée par Mörner ², entre l'ovalbumine et la sérumalbumine cristallisées : la sérumalbumine (préparée avec du sulfate d'ammonium, mais même sans adjonction d'acide sulfurique libre) constitue un sulfate ; il n'en est pas de même pour l'ovalbumine dont sensiblement tout le soufre est albuminoïde.

J'ai successivement étudié le spectre de la sérumalbumine en solution normalement acide α), en solution neutre β) et en solution alcaline γ).

Données numériques :

α) *Sérumalbumine acide*. — Concentration : 5^{gr},54 par litre.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
0,5		2313
2	(2802 — 2683)	2343
3,5	(2833 — 2667)	2365
5	(2833 — 2663)	2382
6,5	(2836 — 2663)	2394
8	(2873 — 2628)	2413
9,5	2873 — 2628	2428
11	2881 — 2628	2445
12,5	2881 — 2628	2470
14	2927 — 2614	2476
15,5	2927 — 2612	2493
17	μ —————>	2927

¹ A. MICHEL. — Verhandl. d. physik. mediz. Gesellschaft., Würzburg, XXIX, 1, 1895.

² K. A. H. MÖRNER : *Zur Kenntniss der Bindung des Schwefels*

β) Sérumbalbumine neutre. — Concentration : 2^{gr},77 par litre. Neutralisation par NaOH, avec le tournesol comme indicateur.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2313
4	(2833 — 2663)	2344
7	(2833 — 2663)	2394
10	(2873 — 2663)	2413
13	(2873 — 2631)	2428
16	2873 — 2628	2445
19	2873 — 2628	2455
22	2881 — 2628	2470
25	2927 — 2612	2476
28	$\mu\mu$ —————>	2927
31	—	2927
34	—	2948

γ) Sérumbalbumine alcaline. — Concentration : 2^{gr},77 par litre. Solution d'albumine neutre dans la liqueur de soude N/100.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2265
4	(2927 — 2881)	2476
7	(2927 — 2881)	2534
10	(2948 — 2873)	2586
13	(2981 — 2833)	2612
16	2981 — 2771	2693
19	3036 — 2749	2749
22	$\mu\mu$ —————>	3076
25	—	3076
28	—	3076
31	—	3076
34	—	3076

12. B. — Spectres des globulines.

a. *Sérumbglobuline*¹. — Le précipité de globulines ob-

in den Proteinstoffen. — Zeitschr. f. physiolog. Chem., XXXIV, 246, 1902.

¹ On n'est pas encore parvenu à faire cristalliser la sérumbglobuline. UMBER (Berl. klin. Wochenschr., n° 28, 1902) aurait réussi une fois à obtenir des cristaux d'ovoglobuline.

tenu dans la préparation de la sérumalbumine de cheval (11 b) fut lavé sur le filtre avec de la solution demi-saturée de sulfate d'ammonium, soigneusement essoré et dissous en versant dessus de l'eau distillée. La liqueur fut saturée de sulfate de magnésium; le précipité de globulines formé fut recueilli sur un filtre, lavé et redissous comme la première fois. On soumit la liqueur à la dialyse en présence d'eau distillée, et on recueillit les premiers flocons de globuline qui se précipitèrent¹. Ces flocons furent lavés à l'eau distillée jusqu'à disparition de toute trace de sulfate et redissous dans la solution de chlorure de sodium à 1 p. 100². La liqueur était tout à fait incolore et légèrement opalescente. Réaction neutre au tournesol.

a) *Sérumglobuline neutre.* — Concentration indéterminée.

Fig. 20
Sérum-
globuline
neutre.

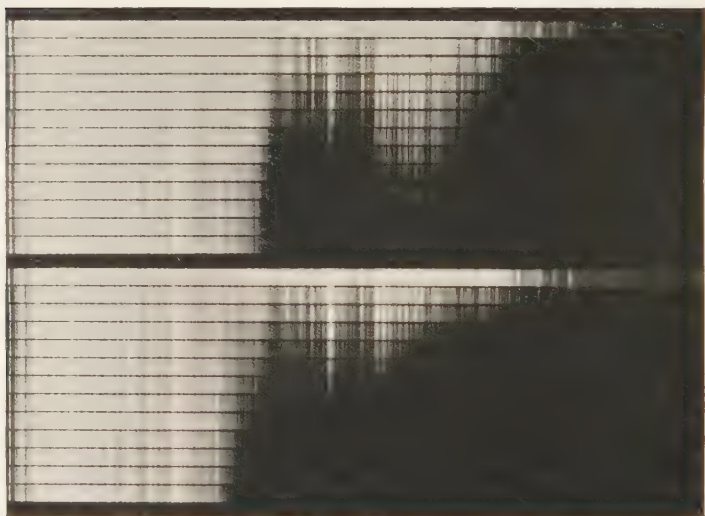


Fig. 21
Sérum-
globuline
alcaline.

¹ La dialyse permet de séparer l'*englobuline insoluble*, de la *pseudoglobuline soluble* dans l'eau distillée (SERO). D'après FREUND et JOACHIM (Zeitschr. f. physiol. Chem., XXXVI, 442, 1902), l'englobuline et la pseudoglobuline seraient toutes deux partiellement solubles dans l'eau distillée.

² Une solution de NaCl à 5 p. 100 laisse encore passer la raie 2400 sous l'épaisseur de 10^{mm}, et la raie 2139 sous l'épaisseur de 60^{mm}.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
0,5		2265
1		2288
2		2365
3	(2833 — 2685)	2382
4	(2833 — 2685)	2382
5	(2833 — 2667)	2399
6	(2873 — 2663)	2405
7	2927 — 2628	2445
8	2927 — 2628	2493
9	2949 — 2628	2493
10	2949 — 2614	2502
12		2967

β) *Sérumglobuline alcaline*. — Même concentration que la sérumglobuline neutre. Solution dans la soude N/100.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
0,5		2265
1		2313
2		2405
3	(2873 — 2685)	2502
4	(2873 — 2685)	2558
5	(2927 — 2663)	2599
6	(2948 — 2628)	2612
7	(2949 — 2628)	2628
8	2981 — 2749	2749
9		2981
10	—	2995
12	—	3018

b. *Edestine cristallisé*. — 10 gr. d'édestine extraite du chènevis ¹ furent dissous à 60° dans 400 cc. de solution de chlorure de sodium à 5 p. 100. On obtint rapidement une solution presque complète. On filtra à l'étuve à 60°, et la liqueur, en refroidissant lentement, laissa déposer un très abondant sédiment cristallin qui se montra au microscope constitué uniquement d'octaèdres admirablement nets. Ces

¹ Edestine de MEISTER, LUGUS et BRÜNING que SCHULZE et WINTERSTEIN (*Zeitschr. f. physiol. Chem.*, XXXIII, 549, 1901) considèrent comme tout à fait pure.

cristaux, séparés des eaux mères par centrifugation, furent lavés avec de la solution de NaCl à 5 p. 100, puis redissous et recristallisés comme précédemment. Enfin, on fit redissoudre cette édestine recristallisée dans la solution de NaCl à 5 p. 100. La liqueur utilisée pour l'examen spectrographique était parfaitement limpide et incolore; réaction neutre au tournesol¹.

Voici quelques analyses centésimales de l'édestine du chanvre cristallisée :

	Osborne ²		Chittenden et Mendel
C	51,26	51,28	51,63
H	6,86	6,84	6,90
N	18,68	18,84	18,78
S	0,94	0,87	0,90
O	22,26	22,17	21,79
	100,00	100,00	100,00
Cendres	0,50	0,07	0,56

L'édestine cristallisée est exempte de phosphore (Zadik³, Leipziger⁴, Osborne⁵).



Fig. 22 — Edestine.

¹ Pour obtenir la neutralité vis-à-vis de la phénolphthaleïne, 1 gr. exigeait 1 cc,25 de soude décijnormale (Cf. OSBORNE, loc. cit., 244).

² TH. OSBORNE : *Crystallised vegetable Proteids*. — *Americ. chem. Journ.*, XIV, 662, 1892.

³ CHITTENDEN et MENDEL : *On the proteolysis of crystallized Globulin*. — *Journ. of Physiology*, XVII, 54, 1894-95.

⁴ H. ZADIK. — *Pflüger's Archiv*, LXXVII, 2, 1899.

R. LEIPZIGER. — *Pflüger's Archiv*, LXXVIII, 403, 1899.

⁵ TH. OSBORNE et J.-F. HARRIS. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, XXXVI, 130, 1902.

On a trouvé pour le pouvoir rotatoire les valeurs suivantes :
 $[\alpha]_D = -43^{\circ},62$ et $-43^{\circ},35$, moyenne $-43^{\circ},48$ (Chittenden et Mendel¹) ;
 $[\alpha]_D = -41^{\circ},5$ (Alexander²).

ÉPAISSEUR en mm	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
4		2288
8		2321
12		2382
16	(2833 — 2685)	2382
20	(2833 — 2685)	2405
24	(2873 — 2667)	2413
28	(2873 — 2663)	2430
32	2927 — 2628	2445
36	2927 — 2628	2445
40	2948 — 2628	2476
44	2948 — 2612	2493
48	2949 — 2599	2502

13. C. — Spectre d'une histone.

Globine de l'oxyhémoglobine cristallisée (Hématohistone). — On désigne sous le nom de *globine* (Preyer et Schulz³) le groupement protéique de la molécule d'hémoglobine⁴. Comme il est facile d'obtenir l'oxyhémoglobine à l'état de cristaux, il en résulte que la globine, qu'on peut extraire de ces cristaux, constitue une matière albuminoïde offrant des garanties de pureté et d'individualité toutes par-

¹ CHITTENDEN et MENDEL. — loc. cit., 57.

² A. C. ALEXANDER : *Die rotatorischen Eigenschaften einiger vegetabilischer Proteide*. — Journ. of experiment. Med., I, 304. 1896 (cité d'après MALY).

³ FR. N. SCHULZ : *Der Eiweisskörper des Hämoglobins*. — Zeitschr. f. physiolog. Chem., XXIV, 449, 1898.

⁴ D'après D. LAWROW (*Quantitative Bestimmung der Bestandtheile des Oxyhämoglobins des Pferdes*. — Zeitschr. f. physiol. Chem., XXVI, 343, 1898), la décomposition ménagée de l'oxyhémoglobine fournit pour 100 parties : 94,09 de *globine*, 4,47 d'*hématine*, et 1,44 d'*autres constituants*. — Il signale la présence d'*acides gras* parmi les produits divers. J'ai aussi constaté, avec V. Henri, — par l'étude de la conductivité électrique — la mise en liberté d'acides gras lors de la décomposition de la molécule d'oxyhémoglobine pure par le courant électrique (voir : MORAT et DOYON, *Traité de Physiologie*, I, 626, 1904).

ticulières ¹. C'est un des motifs qui m'ont engagé à examiner le spectre d'absorption de la globine : un autre motif est que la globine peut être considérée comme un représentant typique du groupe des histones.

La globine a été préparée d'après les indications de Schulz et de van Klaveren ².

Je suis parti d'une solution d'oxyhémoglobine de cheval recristallisée deux fois ³ à laquelle j'ai ajouté peu à peu de l'acide chlorhydrique très étendu jusqu'à dissolution du précipité floconneux brunâtre qui s'était formé tout d'abord. La liqueur fut additionnée d'un mélange d'alcool et d'éther qui, s'emparant de l'hématine, vint former une couche supérieure brune au-dessous de laquelle se trouvait la solution de globine colorée en jaune très clair. On sépara la solution de globine plus dense au moyen d'un entonnoir à robinet, et on y versa de l'ammoniaque très diluée qui détermina la formation d'un copieux précipité légèrement jaunâtre. Ce précipité fut aussitôt recueilli sur un filtre et lavé à l'eau distillée jusqu'à commencement de dissolution, puis dissous dans de l'acide acétique à 2 p. 100 environ. La liqueur, légèrement jaune, ainsi obtenue fut dialysée, en présence d'eau distillée et à la glacière, pendant 72 h. Elle fut alors soumise à l'examen. Elle présentait une réaction acide à peine perceptible au tournesol, était parfaitement limpide, très légèrement jaune, précipitait abondamment par addition d'une trace d'ammoniaque. Elle donnait la réaction de Millon nettement, quoique faiblement.

¹ C'est l'opinion exprimée par Schulz ainsi que par E. FISCHER et E. ABDERHALDEN. — *Zeitschr. f. physiolog. Chem.*, XXXVI, 268, 1902.

² VAN KLAVEREN. — *Zeitschr. f. physiolog. Chem.*, XXXIII, 298, 1901.

³ Voir plus loin (25) la description du procédé de préparation de l'oxyhémoglobine cristallisée. Il est indispensable, pour obtenir un produit tout à fait pur, de faire recristalliser deux fois l'oxyhémoglobine. E. ABDERHALDEN a en effet constaté (*Zeitschr. f. physiolog. Chem.*, XXXVII, 487, en note, 1903) que le produit de première recristallisation fournit à l'hydrolyse 0,62 % de glycocolle, alors que le produit de seconde recristallisation est absolument exempt de glycocolle. Abderhalden rattache l'existence de glycocolle dans le produit de première recristallisation à la présence de sérunglobuline qui est très riche en cet acide aminé (3,25 à 4 p. 100).

Remarque. — J'ai constaté qu'en ajoutant de l'acide chlorhydrique à une solution d'oxyhémoglobine *absolument dépourvue de sels*, on n'arrivait pas à obtenir de précipitation. Il suffit d'introduire dans la liqueur une trace de sel neutre (sulfate d'ammonium, par exemple) pour obtenir, dès qu'on ajoute une très petite quantité d'acide, le précipité signalé précédemment, qui se dissout dans un léger excès d'acide.

La globine a pour composition centésimale : C 54,97 ; H 7,20 ; N 16,89 ; O 19,81 ; S 0,42 ; Cendres 0,71¹. Le pouvoir rotatoire de la globine en solution faiblement acide est, d'après Gamgee et Hill² : $\alpha_D = -54^{\circ},2$.

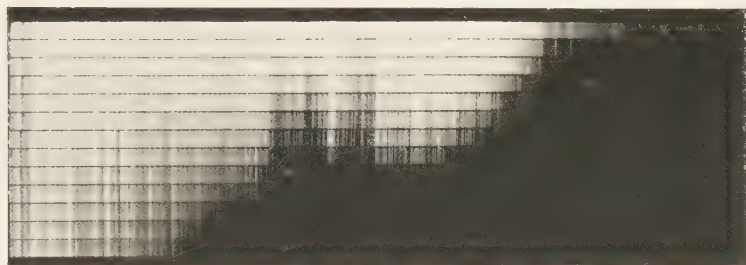


Fig. 23 — Globine.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2265
2		2313
4		2313
6		2374
8	(2873 — 2663)	2382
10	(2881 — 2663)	2405
13	(2927 — 2631)	2445
16	2927 — 2628	2502
19	2948 — 2614	2599
22	2981 — $\rightarrow$	2981
25	—	2981
30	—	3072

¹ D'après SCHULZ. — loc. cit.

² A. GAMGEE et A. CROFT HILL. — Hofmeister's Beiträge, IV, 1.

14. D. — Spectre d'une albumoïde.

Gélatine. — Je n'ai pas compris dans mon programme de recherches l'étude étendue des *albumoïdes* parce que ces substances ne peuvent pas être obtenues actuellement à un état de pureté satisfaisant. Parmi les albumoïdes, il y a pourtant la gélatine qui constitue un produit relativement assez pur. Il y avait intérêt à l'examiner parce que la tyrosine et le tryptophane ne se rencontrent pas au nombre des termes de son hydrolyse. Plusieurs auteurs ayant signalé la grande transparence de la gélatine pour les rayons ultra-violets et des recherches préliminaires m'ayant convaincu qu'il en était bien ainsi —, j'ai tenu à examiner des solu-



Fig. 24 — Gélatine

tions très concentrées. Or, les solutions contenant plus de 1 p. 100 de gélatine se prenant en gelée à la température ordinaire, j'ai soumis d'abord la gélatine à l'action de la vapeur d'eau surchauffée pour lui faire perdre la propriété de se gélifier par refroidissement. On sait que, dans ces conditions, il y a transformation de la gélatine ordinaire en *gélatine* β (essentiellement formée de protogélatoses).

J'ai fait dissoudre 5 gr. de gélatine (marque dorée extra de Wintherthour) dans eau Q. S. pour 100 cc., et j'ai chauffé 3 heures à 120° à l'autoclave. La liqueur resta fluide après refroidissement; il y avait au fond du récipient un léger dépôt (albuminoïde coagulé?); ce dépôt ayant été enlevé par filtration, la liqueur était parfaitement limpide et présentait une coloration ambrée très claire; la réaction au tournesol était acide. Cette liqueur donnait nettement les réactions: du biuret et xanthoprotéique; la réaction d'Adamkiewicz faisait

complètement défaut. La réaction de Millon était positive en opérant comme l'a indiqué Mörner¹, c'est-à-dire en chauffant au bain-marie et en n'employant que très peu de réactif.

En titrant la liqueur par pesée du résidu d'évaporation de 10 cc., on trouva que la concentration était de 5 p. 100 (la différence provenant de la fraction insoluble soustraite par filtration étant compensée sensiblement par la quantité d'eau fixée lors du traitement par la vapeur d'eau surchauffée).

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
0,4		2338
0,8		2365
1,2		2382
1,6		2402
2,0		2444
2,4	(2704 — 2628)	2455
2,8	(2707 — 2628)	2493
3,2	2714 — 2614	2534
3,6	2721 ¹ — 2586	2598
4,0	$\longrightarrow$	2743
4,4	—	2743
4,8	—	2749

¹ Il y a un obscurcissement manifeste de λ 2833 à λ 2721.

J'ai aussi examiné cette solution sous des épaisseurs plus fortes :

Sous l'ÉPAISSEUR de 12 ^{mm} ,	la DERNIÈRE RAIE était λ = 2927
24 »	— » 3076
— 36 »	— » 3282
— 48 »	— » 3466

¹ CARL TH. MÖRNER. — Zeitschr. f. physiolog. Chem., XXVIII, 484, 1899. Cet auteur n'a pas pu observer de différence dans l'intensité de la réaction entre le produit commercial très pur et les produits qu'il avait purifiés le plus soigneusement. Il admet donc (avec VAN NAME. — Journ. of experiment. Medicine, 1897) que ce n'est pas à la présence d'une impureté que la gélatine doit de donner cette réaction.

§ 2. — Absorption des rayons ultra-violets par les substances albuminoïdes de transformation hydrolytique.

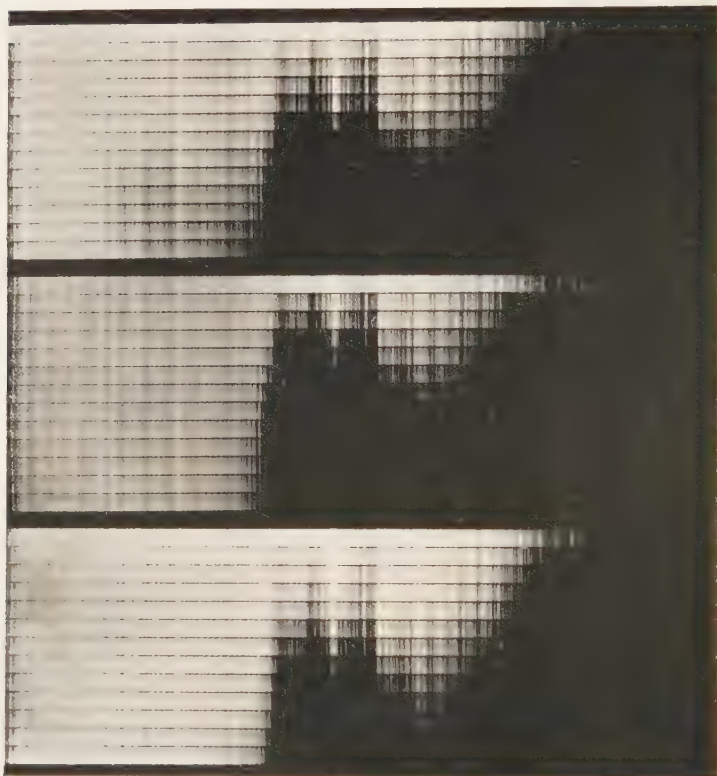
15. A. — Spectres des protéoses.

a. Protoalbumose (de GRÜBLER, Leipzig). — Donne fortement les réactions : du biuret, xanthoprotéique, de Millon et d'Adamkiewicz¹.

Fig. 25.
Protoalbumose.

Fig. 26.
Protoalbumose.

Fig. 27.
Protoalbumose.



Solution à 2 gr. par litre dans la solution chlorurée sodique physiologique (à 7^{gr},5 NaCl par litre) ; liqueur acide au tournesol.

¹ J'ai toujours effectué cette réaction en employant de l'acide glyoxylique, suivant les indications de HOPKINS et COLE.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2313
2		2329
3		2338
4	(2823 — 2667)	2365
6	(2823 — 2663)	2382
8	2833 — 2663	2394
10	2873 — 2628	2427
12	2927 — 2628	2476
14	2927 — 2612	2493
16	∞ —————>	2948
18	—	2949
20	—	2949

b. Hétéroalbumose. — Elle fut préparée par dialyse, en présence d'eau distillée, d'une solution concentrée de peptone de Witte dans la liqueur physiologique. Le précipité obtenu après quatre jours de dialyse à la glacière fut isolé par centrifugation, essoré et soigneusement lavé à l'eau distillée ; il fut dissous dans la liqueur de chlorure de sodium à 10 p. 100. La solution était parfaitement limpide et légèrement ambrée. Réaction neutre au tournesol. Réactions de Millon et d'Adamkiewicz positives.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
0,3		2329
0,6		2365
0,9	(2823 — 2667)	2389
1,2	(2823 — 2663)	2389
1,5	(2832 — 2628)	2394
1,8	2927 — 2628	2427
2,1	2927 — 2628	2439
2,4	2944 — 2614	2455
2,7	2948 — 2599	2493
3,0	2948 — 2599	2493
3,3	∞ —————>	2949
3,6	—	2949

c. Deutéroalbumose (de GRÜBLER). — Donne nettement les réactions : du biuret, xanthoprotéique, de Millon et d'Adamkiewicz ; mais ces deux dernières sont plus faibles

qu'avec la protoprotéose. Solution dans la liqueur physiologique. Concentration : 2 gr. par litre. Solution sensiblement incolore, acide au tournesol.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2313
2		2313
3		2338
4		2338
6		2382
8	(2801 — 2662)	2380
10	(2802 — 2628)	2394
12	(2823 — 2628)	2427
14	2927 — 2628	2439
16	2927 — 2573	2455
18	2937 — 2558	2493
20	—————→	2948

d. Peptone de Witte (marque FRIED. WITTE, à Rostock).

— C'est un mélange des produits de la protéolyse par la pepsine, constitué essentiellement par de la propeptone.

Ce produit est incomplètement soluble dans l'eau, parce qu'il renferme de l'hétéroprotéose. Il se dissout parfaitement dans la liqueur physiologique.

La solution examinée renfermait 2 gr. de peptone de Witte dissous dans un litre de liqueur physiologique : elle était sensiblement incolore.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2265
2		2313
3		2338
4		2374
6	(2802 — 2663)	2382
8	(2873 — 2628)	2419
10	2881 — 2628	2446
12	2927 — 2612	2502
14	—————→	2948
16	—	2949
18	—	2981
20	—	2981

16. B. — Spectres des peptones.

a. **Amphopeptone** (de GRÜBLER). — Donne nettement les réactions : du biuret, xanthoprotéique, de Millon et d'Adamkiewicz. Solution dans la liqueur physiologique. Concentration : 2 gr. par litre. Solution sensiblement incolore, acide au tournesol.

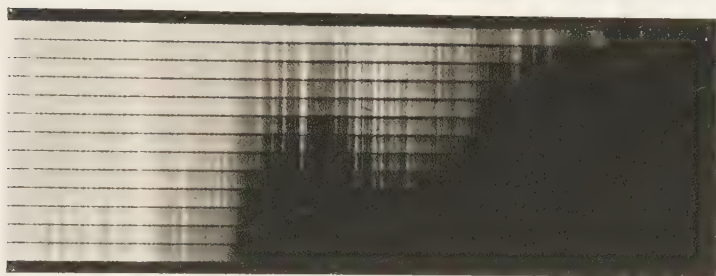


Fig. 28 — Amphopeptone.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2195
2		2265
3		2313
4		2313
6	(2801 — 2667)	2338
8	(2801 — 2666)	2382
10	(2801 — 2663)	2389
12	(2802 — 2663)	2394
14	(2802 — 2663)	2402
16	2880 — 2613	2446
18	2926 — 2613	2470
20	2937 — 2572	2502

b. **Antipeptone** (de GRÜBLER). — [L'antipeptone n'est pas une véritable peptone; c'est, en réalité, un *polypeptide* dont l'hydrolyse fournit notamment du glycocole, de la proline et de la phénylalanine.]

Remarquons que l'antipeptone, qui constitue un produit intermédiaire entre les substances albuminoïdes et les termes de l'hydrolyse de ces substances, a un spectre d'absorption bien à part, caractérisé par une bande d'absorption très atténuée ¹.

§ 3. — Absorption des rayons ultra-violetés par les dérivés non albuminoïdes des substances albuminoïdes.

17. Classification des dérivés examinés. — Sous l'influence d'agents d'hydrolyse appropriés, le complexe moléculaire des substances albuminoïdes (et albumoïdes) se scinde en fragments nombreux de constitution définie : ces termes sont tous des *acides aminés*, c'est-à-dire des corps qui renferment chacun, une fois au moins, les deux fonctions COOH et AzH² (ou AzH) ².

La question se pose de savoir si d'autres corps que les acides aminés ne prennent pas part à la constitution des substances albuminoïdes. En effet — si l'on fait abstraction du cas offert par quelques protamines, telle la sturine — on constate que toujours il y a un déchet notable dans le rendement en acides aminés comparé au poids de substance hydrolysée. On peut admettre que le déficit tient, pour une bonne part, aux pertes qui se produisent au cours des manipulations que nécessite l'isolement à l'état de pureté des aminoacides. Il y a lieu de remarquer qu'en dehors des acides aminés, on n'a trouvé parmi les termes de l'hydrolyse suffi-

¹ Cette bande à très court trajet m'avait échappé à un premier examen : c'est pourquoi je n'en parle pas dans ma communication préliminaire *Sur l'absorption des rayons ultra-violetés par les substances albuminoïdes et leurs dérivés*, faite à la réunion de la Société helvétique des sciences naturelles, en juillet 1907 (Arch. des Sc. phys. et nat., 4^e période, XXIV, 579, 1907).

² Cas de la proline qui possède une fonction *imine*.

samment avancée que la glycosamine¹; or, ce groupement hydrocarboné est, certainement, moins important qu'on ne l'avait supposé tout d'abord, car, dans bien des cas, on a reconnu qu'il constituait, en majeure partie, une impureté.

Voici donc quels sont les dérivés que fournit l'hydrolyse des substances albuminoïdes (plus généralement, protéiques) dont les spectres ont été décrits précédemment.

A. — Série acyclique.

1 ^o Acides monoaminés :	Glycocolle.	
	Alanine.	
	Valine.	
	Leucine.	
2 ^o Acide-alcool aminé :	Sérine.	
3 ^o Acide-thiol aminé :	Cystéine.	
4 ^o Diacides monoaminés :	Acide aspartique.	
	Acide glutamique.	
5 ^o Acides diaminés :	Lysine.	} Bases hexoniques.
	Arginine.	
	Histidine.	

B. — Série carbocyclique.

1 ^o Acide monoaminé :	Phénylalanine.
2 ^o Acide-alcool aminé :	Tyrosine.

C. — Série hétérocyclique

1 ^o Acides monoaminés :	Proline.
	Tryptophane.
2 ^o Acide-alcool aminé :	Oxyproline.

¹ Il y a aussi souvent un résidu de produits humiques et de l'ammoniaque; mais nous n'avons pas à tenir compte ici de ces termes provenant de réactions secondaires.

[Pour la répartition quantitative de ces divers noyaux dans les substances protéiques naturelles examinées, consultez le tableau p. 72 ¹].

J'ai photographié les spectres d'absorption ultra-violet des dérivés précités ², ainsi que ceux de :

1° L'*acide aminobutyrique* qui existe peut-être dans les produits d'hydrolyse de la gélatine ³;

2° La *glycosamine* qui prend part à la constitution de certaines albumines tout au moins, puisqu'on peut obtenir 2,5 p. 100 de glycosamine à partir de l'ovalbumine purifiée par six recristallisations ⁴;

3° L'*inosite* dont le spectre était intéressant à examiner pour deux motifs : en premier lieu, parce que l'inosite est un sucre cyclique ; et, en second lieu, parce que l'inosite dérive sans doute des substances albuminoïdes, puisque Danilewski a constaté que, dans la digestion des albuminoïdes, on obtient une tyrosine-inosite ⁵ :

4° L'*adrénaline* dont l'origine est encore problématique, mais qui semble pouvoir provenir des substances protéiques ⁶.

¹ Les éléments de ce tableau sont empruntés, pour la plupart, à E. ABDERHALDEN. — *Lehrbuch. d. physiolog. Chem.*, 1906.

² Je dois présenter deux observations à ce sujet :

La première, c'est que je n'ai pas examiné le spectre de la *cystéine*, mais bien celui de la *cystine*. On tend, d'ailleurs, de plus en plus, à admettre que c'est la cystine, plutôt que la cystéine, qui existe préformée dans la molécule albuminoïde. (Cf. A.-J. PATTEN : *Einige Bemerkungen über das Cystin*. — *Zeitschr. f. physiolog. Chem.*, XXXIX, 350, 1903).

La seconde, c'est qu'ayant examiné le spectre de la *proline*, j'ai cru pouvoir me dispenser d'examiner le spectre de l'*oxyproline*, étant donné que je ne voyais pas la possibilité de me procurer aisément un échantillon de ce dernier corps.

³ E. FISCHER, LEVENE, ADERS. — *Zeitschr. f. physiolog. Chem.*, XXXV, 70, 1902.

⁴ E. ABDERHALDEN : *Lehrbuch*, 160 et 175 (en note).

⁵ DANILEWSKI. — *Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch.*, XIII, 2132. 1880.

⁶ E. ABDERHALDEN : *Lehrbuch*, 644.

	ALBUMINES			GLOBULINES		HISTONE	ALBUMOÏDE
	OVALBUMINE	SÉRUMALBUMINE	SÉRUMGLOBULINE	ÉDESTINE ¹	GLOBINE	GÉLATINE	
Glycocolle . . .	0	0	3,5	3,8	0	16,5	
Alanine . . .	2,1	2,7	2,2	3,6	4,2	0,8	
* Valine . . .	?	+	+	+		1,0	
Leucine . . .	6,1	20,0	18,7	20,9	29,0	2,1	
* Sérine . . .		0,6		0,33	0,6	0,4	
* A. aspartique .	1,5	3,1	2,5	4,5	4,4	0,56	
* A. glutamique .	8,0	7,7	8,5	6,3	1,7	0,88	
* Lysine . . .	2,15 ²			1,0	4,3	2,55	
* Arginine . . .	2,14 ²			11,7	5,4	7,62	
* Cystine . . .	0,2	2,3	0,7	0,25	0,3		
* Phénylalanine .	4,4	3,1	3,8	2,4	4,2	0,4	
Tyrosine . . .	1,1	2,1	2,5	2,1	1,5	0	
* Proline (a) . .	2,25	1,0	2,8	1,7	2,3	5,2	
(Oxyproline) .				2,0	1,0	3,0	
* Tryptophane .	+	+	+	+	+	0	
* Histidine . .				1,1	11,0	0,10	

¹ du chœnevis.

² D'après L. HUGOUXENO et J. GAUMARD : *Sur les acides aminés dérivés de l'ovalbumine*. — C. R. Acad. des Sciences, CXLIH, 242. 1906.

Les astérisques indiquent les aminocides dont j'ai, le premier, étudié les propriétés absorbantes pour les rayons ultra-violet.

Enfin j'ai cru devoir examiner le spectre de l'urée à cause de l'importance hors ligne que présente ce produit comme terme ultime de la désassimilation protéique chez les mammifères.

18. A. — Spectres des dérivés acycliques.

a. Glycocolle ou *acide α -aminoacétique* (marque « KAHL-BAUM »)¹.

Solution dans l'eau contenant 100 gr. par litre. Épaisseurs successives de la couche interposée : 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44 et 48 mm.

Sous l'ÉPAISSEUR de	4 ^{mm} ,	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda =$	2265
—	12 »	—	»	2313
—	24 »	—	»	2365
—	36 »	—	»	2375
—	48 »	—	»	2382

Ainsi que le montre la fig. 30, p. 74, le glycocolle n'exerce pas d'absorption sélective sur les rayons ultra-violets.

b. Alanine ou *acide α -aminopropionique* (de KAHL-BAUM).

Solution aqueuse renfermant 100 gr. par litre. Mêmes épaisseurs successives que dans le cas précédent.

Sous l'ÉPAISSEUR de	4 ^{mm} ,	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda =$	2265
—	12 »	—	»	2389
—	24 »	—	»	2493
—	36 »	—	»	2558
—	48 »	—	»	2749

L'alanine est donc plus absorbante que le glycocolle, mais ne présente pas, non plus, un spectre à bande (fig. 31).

¹ J'ai contrôlé, autant qu'il m'a été possible, la pureté des produits utilisés (par détermination de la température de fusion, au moyen de réactions appropriées, etc.) : je crois être en droit d'affirmer que tous ces produits étaient parfaitement purs.

Il y a seulement un minimum de transmission, peu accusé du reste, au voisinage de la raie λ 2663.

Fig. 30
Ivycoelle.

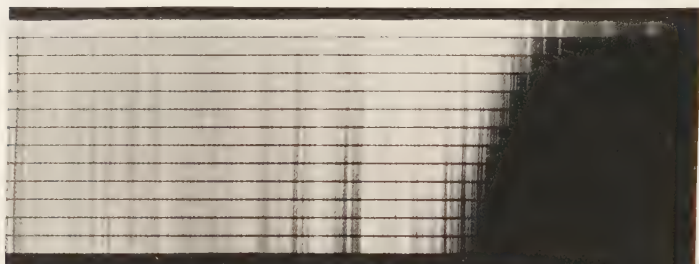


Fig. 31
Alumine

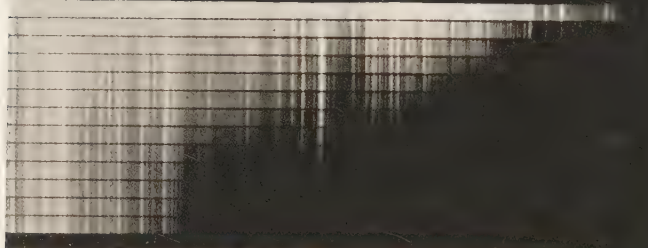


Fig. 32
Cystine
leuline.

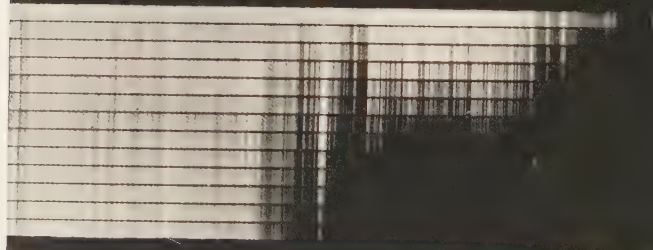


Fig. 33
Cystine
crist.



c. Acide α -aminobutyrique (de KAHLBAUM).

Solution aqueuse à 10 gr. par litre.

Sous l'épaisseur de	4 ^{mm} ,	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda =$	2139
—	12 »	—	»	2195
—	24 »	—	»	2240
—	36 »	—	»	2265
—	48 »	—	»	2265

Pas de bande d'absorption ¹.

d. Valine ou acide α -aminoisovalérique (de KAHLBAUM).

Solution aqueuse. Concentration: 10 gr. par litre.

Sous l'épaisseur de	4 ^{mm} ,	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda =$	2139
—	12 »	—	»	2204
—	24 »	—	»	2265
—	36 »	—	»	2265
—	48 »	—	»	2313

Pas de bande d'absorption.

e. Leucine ou acide α -aminoisobutylacétique (L. synthétique de KAHLBAUM).

Solution aqueuse. Concentration : 5 gr. par litre.

Sous l'épaisseur de	4 ^{mm} ,	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda =$	2139
—	12 »	—	»	2144
—	24 »	—	»	2195
—	36 »	—	»	2265
—	48 »	—	»	2265

Pas de bande d'absorption.

f. Sérine ou acide α -amino- β -oxypropionique (S. extraite de la vitelline, préparation d'HUGOUNENQ et GALIMARD).

Solution aqueuse. Concentration 1 gr. par litre.

¹ Je crois superflu de reproduire les spectrogrammes de *tous* les dérivés qui absorbent d'une façon uniquement continue les rayons les plus réfrangibles. Les fig. 30 et 31 suffiront comme spécimens.

Sous l'ÉPAISSEUR de	4 ^{mm} ,	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda = 2100$
	24 »		» 2144
—	48 »	—	» 2195
—	250 »	—	» 2288

Pas de bande d'absorption.

g. *Cystine* ou *acide α -diamino- β -dithiodilactique* (préparation personnelle). Cette cystine provient de l'hydrolyse du crin par l'acide chlorhydrique ¹. Le produit obtenu présentait tous les caractères d'une pureté parfaite (cristaux bien nets et incolores, absence de la réaction de la tyrosine, etc.).

a) *Cystine alcaline*. — Solution dans la soude N/25. Concentration: 5 gr. par litre. Épaisseurs successives de la couche interposée: 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40, 44, 48 dixièmes de mm.

Sous l'ÉPAISSEUR de	0,4 ^{mm} ,	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda = 2144$
—	1.2 »	—	» 2265
—	2.4 »	—	» 2313
—	3,6 »	—	» 2382
—	4.8 »	—	» 2614

Pas de bande d'absorption ² (voir fig. 32, p. 74).

β). *Cystine acide*. — Solution dans l'acide chlorhydrique étendu (20 cc. d'acide de $D = 1.19$ dans un litre). Concentration: 1 gr. par litre. Mêmes épaisseurs successives que pour le glycocole.

Sous l'ÉPAISSEUR de	4 ^{mm} ,	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda = 2144$
	12 »	—	» 2313
	24 »	—	» 2563
—	36 »	—	» 2714
—	48 »	—	» 2740

Pas de bande d'absorption (voir fig. 33, p. 74).

¹ J'ai procédé comme l'indique E. FISCHER. — *Anleitung zur Darstellung organischer Präparate*, 7^{te} Aufl., 89, 1905.

² Il y a, pourtant, sous les épaisseurs 3,2, et 3,6 mm., un obscurcissement assez prononcé entre $\lambda 2599$ et $\lambda 2382$. Cette apparence de bande est exagérée sur la reproduction du spectrogramme: l'examen du cliché ne montre pas nettement une bande véritable.

h. Acide aspartique ou *acide α -aminosuccinique* (de KAHLBAUM).

Solution aqueuse. Concentration: 5 gr. par litre.

Sous l'épaisseur de	4 ^{mm}	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda =$	2139
—	12 »	—	»	2195
—	24 »	—		2265
—	36 »	—		2265
—	48 »	—	»	2288

Pas de bande d'absorption.

i. Acide glutamique ou *acide α -aminoglutarique* (de KAHLBAUM).

Solution aqueuse. Concentration: 5 gr. par litre.

Sous l'épaisseur de	4 ^{mm}	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda =$	2139
—	12 »	—		2195
—	24 »	—		2265
—	36 »	—	»	2265
—	48 »	—		2313

Pas de bande d'absorption.

k. Lysine ou *acide α - ϵ -diaminocaproïque* (chlorhydrate de L. préparé par J. GALIMARD).

Solution aqueuse. Concentration: 10 gr. par litre.

Sous l'épaisseur de	4 ^{mm}	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda =$	2139
—	12 »	—	»	2204
—	24 »	—	»	2265
—	36 »	—	»	2313
—	48 »	—	»	2382

Pas de bande d'absorption.

l. Arginine ou *guanidine de l'acide α - δ -diaminovalérique* (provenant de l'hydrolyse acide de la corne, L. HUGOUNENQ).

Solution aqueuse. Concentration: 10 gr. par litre.

Sous l'épaisseur de	4 ^{mm}	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda =$	2265
—	12 »	—	»	2444
—	24 »	—	»	2558
—	36 »	—	»	2743
—	48 »	—		3177

Pas de bande d'absorption.

m. Histidine ou *acide α -amino- β -imidazolpropionique* (de SCHUCHARDT).

Solution aqueuse de chlorhydrate d'histidine. Concentration : 10 gr. par litre.

Sous l'épaisseur de	4 ^{mm}	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda = 2333$
—	12 »	—	» 2365
—	24 »	—	» 2382
—	36 »	—	» 2394
—	48 »	—	» 2405

Pas de bande d'absorption.

n. Glycosamine ou *α -aminoglycose* (chlorhydrate, de SCHUCHARDT).

Solution aqueuse à 100 gr. par litre.

Sous l'épaisseur de	4 ^{mm}	la DERNIÈRE RAIE est	$\lambda = 2100$
—	12 »	—	» 2139
—	24 »	—	» 2195
—	36 »	—	» 2265
—	48 »	—	» 2313

Pas de bande d'absorption.



Fig. 34 — Phénylalanine.

19. B. Spectres des dérivés carbocycliques.

a. Phénylalanine ou *acide β -phényl- α -aminopropionique* (de KAHLBAUM).

a) *Phénylalanine acide*. — Solution aqueuse. Concentration : 0^{gr},4 par litre.

Relevé numérique :

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
3	(2740 — 2663)	2195
6	(2802 — 2614)	2243
9	2927 — 2502	2265
12	2949 — 2446	2265
15	2981 — 2427	2265
18	3003 — 2413	2265
21	3007 — 2394	2265
24	3018 — 2374	2265
27	3036 — 2365	2265
30	3036 — 2313	2288
33	3044 — 2313	2288
36	3062 — 2313	2313

β) *Phénylalanine alcaline*. — Solution dans la soude N/100. Concentration : 0^{gr},4 par litre.

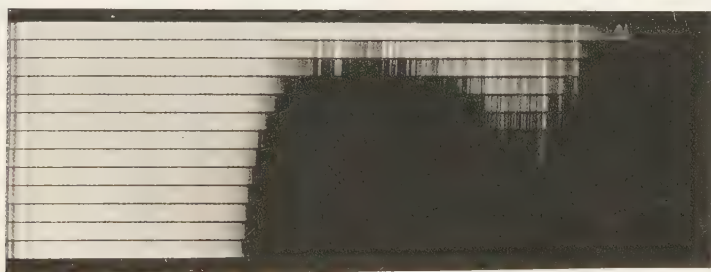


Fig. 35 — Phénylalanine alcaline.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
3	(2726 — 2663)	2240
6	2726 — 2614	2265
9	2802 — 2558	2265
12	2927 — 2446	2265
15	2948 — 2413	2265
18	2967 — 2413	2288
21	2981 — 2394	2288
24	2986 — 2365	2313
27	2995 — 2338	2313
30	3003 — 2313	2313
33	— — — — —	3007
36	— — — — —	3018

b. Tyrosine ou *acide paraoxyphényl- α -aminopropionique*.

a) *Tyrosine acide*. (T. synthétique de SCHUCHARDT).
Solution aqueuse. Concentration : 0^{gr}.4 par litre.



Fig. 36 — Tyrosine.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
3		2313
6	(2802 — 2663)	2320
9	(2823 — 2631)	2343
12	2833 — 2628	2365
15	2858 — 2628	2374
18	2873 — 2622	2382
21	2873 — 2614	2382
24	2873 — 2599	2389
27	2873 — 2586	2394
30	2881 — 2573	2391
33	2881 — 2558	2399
36	2881 — 2534	2405

Sous l'épaisseur de 42mm., la bande de transparence sur λ 2470 disparaît et la raie terminale est alors λ 2884.

β) *Tyrosine alcaline* (de MERCK). — Solution dans la soude N/100. Concentration: 0^{gr},4 par litre.

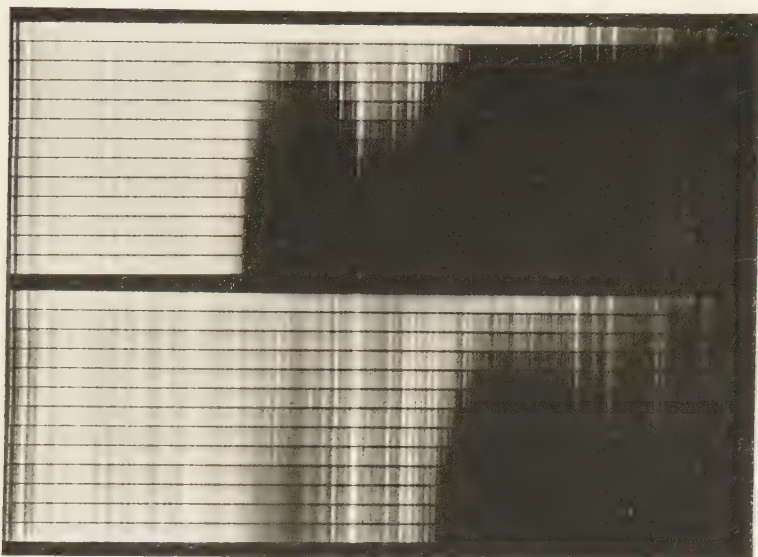


Fig. 37
Tyrosine
alcaline

Fig. 38
Tyrosine
alcaline

ÉPAISSEUR en mm.	BANDES D'ABSORPTION		DERNIÈRE RAIE
	I — λ	II — λ	
3		2493—2313	2139
6	(2948—2881)	$\rightarrow$ — — $\rightarrow$	2534
9	2981—2873	—	2562
12	3017—2833	—	2598
15	3036—2802	—	2599
18	3059—2768	—	2607
21	3076—2756	—	2628
24	3096—2749	—	2749
27	3113—2749	—	2749
30	$\rightarrow$ — — $\rightarrow$	—	3119
33	—	—	3119
36	—	—	3119

La fig. 38 représente le spectre de la solution précédente examinée sous des épaisseurs plus faibles. On y suit la bande d'absorption la plus réfrangible depuis son apparition jusqu'à sa disparition.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDES D'ABSORPTION		DERNIÈRE RAU λ
	I — λ	II — λ	
0,5			2100
1			2100
1,5			2139
2			2139
2,5		(2476—2321)	2144
3		2433—2313	2144
3,5		2502—2313	2144
4	(2948—2881)	2525—2265	2195
4,5	(2948—2881)	2534—2265	2204
5	(2948—2881)	2552—2204	2204
5,5	(2949—2881)	— — — — — $\rightarrow$	2539
6	(2949—2881)	—	2550

20. C. Spectres des dérivés hétérocycliques.

a. Proline ou *acide α -pyrrolidinecarbonique*, (préparation personnelle à partir de prolinat de cuivre inactif de A. MOREL).

Fig. 39
Tryptophane.

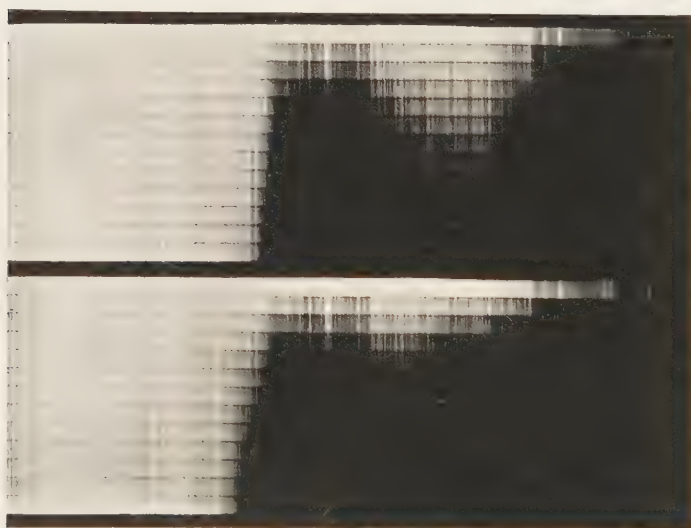


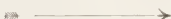
Fig. 40
Tryptophane
alkalin.

Je n'ai pu disposer que de 5 centigr. de prolinat de cuivre que j'ai décomposés par SH^2 pour mettre en liberté la proline. La très petite quantité de proline ainsi obtenue a

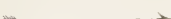
été examinée, dissoute dans 25 cc. d'eau, en couches d'épaisseurs croissantes jusqu'à absorption de tous les rayons plus réfringibles que λ 3344 (épaisseur: 25 cm.). Je n'ai observé aucune bande d'absorption.

b. **Tryptophane** ou *acide scatolaminoacétique* ou *a. indolaminopropionique*. (Tryptophane extrait de la caséine, préparation de C. NEUBERG) ¹.

a) *Tryptophane acide*. — Solution aqueuse. Concentration: 0^{gr},3 par litre.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2265
2	(2802 — 2685)	2313
3	(2802 — 2685)	2313
4	(2833 — 2663)	2313
5	2873 — 2628	2343
6	2927 — 2618	2343
7	2937 — 2573	2374
8	2948 — 2534	2382
9	2948 — 2502	2382
10	2949 — 2446	2382
11		2949
12	—	2967

$\betaTryptophane alcalin. — Solution dans la soude N 100. Concentration: 0^{gr},15 par litre.$

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
2		2265
4	(2881 — 2704)	2313
6	(2881 — 2704)	2382
8	2927 — 2663	2446
10	2948 — 2658	2493
12	2949 — 2612	2558
14		2981
16	—	2981
18	—	2986
20	—	3003
22	—	3017
24	—	3017

¹ C. NEUBERG: Zur Kenntnis des Tryptophans. — Charité-Annalen, XXX. 424. 1906.

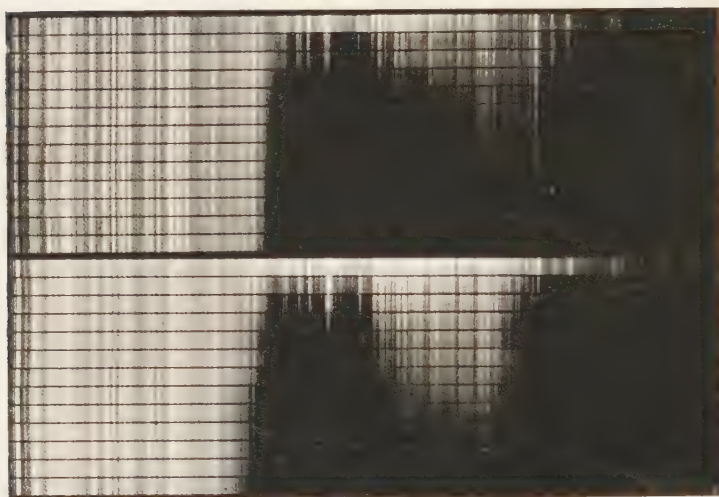
Il m'a semblé intéressant d'examiner aussi les spectres de l'indol et du scatol dont le tryptophane est la substance mère dans l'organisme.

c. Indol ou *benzopyrrol* (de KAHLBAUM).

Solution aqueuse. Concentration : 0^{gr},1 par litre.

Fig. 41
Indol.

Fig. 42
Scatol.



ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1,5	(2717 — 2663)	2265
3	(2743 — 2658)	2265
4,5	2747 — 2612	2265
6	2832 — 2573	2288
7,5	2868 — 2502	2288
9	2881 — 2444	2288
10,5	2881 — 2413	2313
12	2911 — 2411	2313
13,5	2911 — 2407	2313
15	2927 — 2389	2313
16,5	→ ————— →	2927
18		2937

d. Scatol ou β -méthylindol (de KAHLBAUM).

Solution aqueuse. Concentration : 0^{gr}.1 par litre.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1,5		2288
3		2313
4,5	(2802 — 2685)	2333
6	(2833 — 2663)	2338
7,5	2873 — 2658	2338
9	2917 — 2628	2365
10,5	2948 — 2618	2365
12	2949 — 2573	2382
13,5	2967 — 2558	2382
15	2967 — 2534	2382
16,5	2973 — 2502	2382
18	2981 — 2499	2382

En comparant les spectres du tryptophane et du scatol (fig. 39 et 42), on est frappé de leur grande ressemblance.

Remarquons encore que, dans le spectre du scatol, il y a, par rapport au spectre de l'indol, déplacement de l'absorption du côté le moins réfrangible. Le sens de ce transfert déterminé par la méthylation concorde avec la règle énoncée par Gerhard Krüss ¹.

21. D. Spectres de quelques dérivés éloignés divers.

a. Inosite ou *hexahydrohexaoxybenzène* (de KAHLBAUM).
Solution aqueuse. Concentration : 4 gr. par litre.

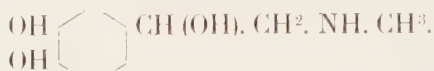
Sous l'épaisseur de 25^{mm}, la raie $\lambda = 2100$ est encore transmise. Pas de bande d'absorption.

b. Adrénaline (de GABRIEL BERTRAND) ². — Dérivé de

¹ G. KRÜSS : *Beziehungen zwischen Zusammensetzung u. Absorptionsspectrum organischer Verbindungen.* — *Zeitschr. f. physik. Chem.*, II, 312, 1888.

² G. BERTRAND : *Sur la composition chimique et la formule de l'adrénaline.* — *Bull. Soc. Chim.*, XXXI, 1289, 1904.

la pyrocatechine dont la formule de constitution est, d'après Friedmann ¹ :



Cette substance est très facilement oxydable. Je vais décrire successivement les spectres de l'adrénaline aussi peu oxydée que possible et de l'adrénaline oxydée au contact de l'air.

a) *Adrénaline non oxydée.* — Concentration : 0^{gr},2 par litre. On introduit 0^{gr},02 d'adrénaline dans 100 cc. d'eau bouillie placés dans un flacon dont le bouchon creux et rodé

Fig. 43
Adrénaline.

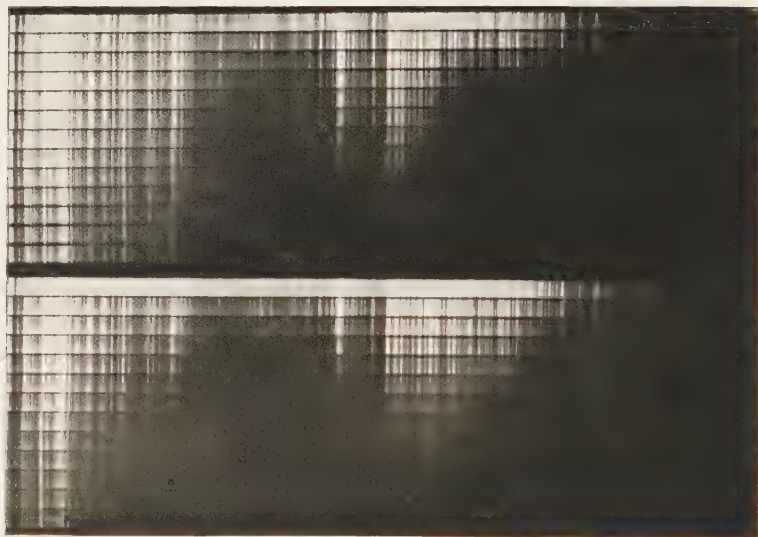


Fig. 44
Adrénaline
oxydée.

est surmonté d'un robinet. On fait aussitôt communiquer le robinet avec une trompe qui aspire l'air. On agite alors le flacon jusqu'à dissolution complète de l'adrénaline. La liqueur obtenue présente d'abord une teinte très légèrement rosée qui bientôt vire au jaune très clair. On l'emploie sous cet état.

¹ E. FRIEDMANN : *Die Konstitution des Adrenalins.* — Hofmeister's Beiträge, VIII, 94, 1906.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RATE λ
1		2144
2		2195
3	(2948 — 2881)	2265
4	(2948 — 2881)	2265
5	2981 — 2833	2374
6	3072 — 2802	2475
7	3133 — 2771	2558
8	3138 — 2768	2574
9	3177 — 2749	2593
10	3261 — 2628	2598
11	3282 — 2628	2598
12	$\mu m \longrightarrow$	3282

β) *Adrénaline oxydée*. — 50 cc. de la liqueur précédente sont placés dans un flacon à saturation de Gahl-Ostwald. On y fait passer, en une heure, 60 litres d'air saturé de vapeur d'eau. La solution est alors examinée de nouveau. Elle est fortement colorée en rouge brunâtre.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RATE λ
1		2139
2	(3138 — 2927)	2195
3	3250 — 2873	2265
4	3261 — 2802	2313
5	3282 — 2768	2338
6	3282 — 2749	2375
7	3303 — 2663	2375
8	3345 — 2628	2445
9	3345 — 2623	2476
10	3406 — 2598	2493
11	$\mu m \longrightarrow$	3599
12	—	3612

On voit que, sous l'influence de l'oxydation, la bande d'absorption s'élargit en s'étendant davantage vers le spectre visible.

c. *Urée* ou *carbamide* (marque « KAHLBAUM »).

Solution aqueuse. Concentration : 400 gr. par litre.

Sous l'épaisseur de	4 ^{mm} ,	la dernière raie est	$\lambda =$	2144
--	12 »	—	»	2195
—	24 »	—	»	2265
	36 »	—	»	2265
—	48 »	.	»	2265
Pas de bande d'absorption ¹ .				

22. Interprétation du spectre d'absorption ultra-violet des substances albuminoïdes. — Il résulte des observations relatives aux §§ 1 et 2 (p. 48 à 69) que *les substances albuminoïdes proprement dites offrent toutes une bande d'absorption dans le spectre ultra-violet.*

Cette bande ne serait-elle pas due à une substance étrangère qui se retrouverait dans tous les produits albuminoïdes — comme se l'était demandé Soret? Mes recherches apportent une réponse décisive à cette question, puisqu'on a vu que *cette bande apparaît dans toute sa netteté lors de l'examen des substances albuminoïdes très pures que l'on parvient à préparer au moyen des procédés perfectionnés actuels (ovalbumine, sérualbumine, édestine cristallisées, globine de l'oxyhémoglobine cristallisée, etc.).*

En comparant entre eux les spectres d'absorption des diverses substances albuminoïdes — soit naturelles, soit dénaturées (par transformation hydrolytique) — on a pu remarquer des différences notables dans la marche de l'absorption des rayons ultra-violet : *la transparence des diverses substances albuminoïdes pour les rayons ultra-violet est assez inégale, et l'absorption ne porte pas, dans tous les cas, exactement sur les mêmes radiations, tant dans la continuité qu'à l'extrémité du spectre.*

Que l'on rapproche, par exemple, pour les comparer, les spectres de l'ovalbumine et de la sérualbumine cristallisées

¹ SORET a examiné avant moi le spectre de l'urée ; mais l'échantillon sur lequel il a opéré était impur (la liqueur non filtrée était un peu louche et contenait une petite quantité de bleu de Prusse).

on constatera qu'en solution acide, ou neutre, ou alcaline (fig. 14, 15, 16 et 17, 18, 19), les spectres de ces deux albumines présentent des particularités nombreuses qui ne permettent pas de les confondre. Je me borne, ici, à signaler l'existence de ces différences sans les relever en détail. Je noterai simplement en passant que, si le spectre de chaque espèce d'albuminoïde a sa physionomie propre, il n'y a pas, semble-t-il, de traits distinctifs généraux appartenant aux diverses espèces d'une même famille et permettant de les grouper suivant la classification établie : les spectres des globulines, par exemple, ne diffèrent pas plus ni autrement, en apparence, de ceux des albumines que les spectres de deux albumines peuvent différer entre eux.

Quoi qu'il en soit, à côté de ces légères différences qu'il suffit pour le moment de mentionner, il faut souligner ce fait essentiel que les solutions de toutes les substances albuminoïdes (acides ou neutres) absorbent, sous une épaisseur convenable pour une concentration donnée, les radiations comprises entre les raies λ 2927 Å et λ 2628 Å (ou λ 2612 Å). C'est seulement quand elle a cette largeur — correspondant à un intervalle de 300 Å¹ environ — que la bande d'absorption des substances albuminoïdes présente une délimitation commune à peu près constante.

Voyons donc, maintenant, quelle interprétation comporte le spectre d'absorption des albuminoïdes, et, plus particulièrement, quelle explication peut être fournie de l'existence de la bande d'absorption dont nous venons de parler.

Reportons-nous au tableau de la page 72 : il renferme les données que nous possédons actuellement sur la composition qualitative et quantitative — en acides aminés — des substances albuminoïdes naturelles dont les spectres ont été décrits aux §§ 1 et 2. Les spectres d'absorption de ces ami-

¹ C'est là une façon abrégée d'exprimer la distance qui sépare, sur le spectre *normal*, deux raies dont les longueurs d'onde diffèrent de 300 Å.

noacides dérivés des substances albuminoïdes ont été examinées au § 3 (p. 69 à 88), et cet examen nous conduit à répartir ces dérivés en deux groupes : *Certains dérivés absorbent simplement, mais avec une intensité variable, la plage terminale ultra-violette ; ce sont : le glycocolle, l'alanine, la valine, la leucine, la sérine, la cystine, les acides aspartique et glutamique, la lysine, l'arginine, l'histidine, la proline, la glycosamine. D'autres dérivés fournissent un spectre présentant, en plus, une bande d'absorption ; ce sont : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane.*

SUBSTANCE ABSORBANTE		RADIATIONS ABSORBÉES	LARGEUR DE LA BANDE	RAIE MOYENNE ABSORBÉE	DERNIÈRE RAIE TRANSMISE
Ovalbumine	<i>acide</i>	λ 2927—2628 Å	299 Å	λ 2778 Å	λ 2444 Å
»	<i>neutre</i>	» 2927—2628 »	299 »	» 2778 »	» 2444 »
Sérumalbumine	<i>acide</i>	» 2927—2612 »	315 »	» 2770 »	» 2476
»	<i>neutre</i>	» 2927—2612 »	315 »	» 2770 »	» 2476
Sérumglobuline	<i>neutre</i>	» 2927—2628 »	299 »	» 2778 »	» 2445
Edestine	<i>neutre</i>	» 2927—2628 »	299 »	» 2778 »	» 2445
Globine	<i>acide</i>	» 2927—2628 »	299 »	» 2778 »	» 2502
Protoprotéose	<i>acide</i>	» 2927—2612 »	315 »	» 2770 »	» 2493
Hétéroprotéose	<i>neutre</i>	» 2927—2628 »	299 »	» 2778 »	» 2427
Deutéroprotéose	<i>acide</i>	» 2927—2628 »	299 »	» 2778 »	» 2439
Amphopeptone	<i>acide</i>	» 2927—2612 »	315 »	» 2770 »	» 2470
Phénylalanine	<i>acide</i>	» 2884—2586 »	298 »	» 2735 »	» 2241
Tyrosine	<i>acide</i>	» 2881—2573 »	308 »	» 2727 »	» 2394
Tryptophane	<i>acide</i>	» 2927—2618 »	309 »	» 2773 »	» 2343
Ovalbumine	<i>alcaline</i>	» 2949—2663 »	286 »	» 2806 »	» 2493
Sérumalbumine	<i>alcaline</i>	» 3036—2749 »	287 »	» 2893 »	» 2749
Sérumglobuline	<i>alcaline</i>	» 2981—2749 »	232 »	» 2865 »	» 2749
Phénylalanine	<i>alcaline</i>	» 2858—2558 »	300 »	» 2708 »	» 2266
Tyrosine	<i>alcaline</i>	» 3059—2768 »	291 »	» 2914 »	» 2607
Tryptophane	<i>alcalin</i>	» 2948—2658 »	290 »	» 2803 »	» 2493

Nous devons évidemment rattacher l'existence de la bande d'absorption ultra-violette des substances albuminoïdes au fait que ces substances renferment des noyaux jouissant de la propriété d'absorber les rayons ultra-violetts d'une façon discontinue. Afin d'apprécier le rôle éventuel que peut jouer chacun de ces noyaux, il convient, tout d'abord, de déterminer la position occupée par la bande d'absorption de chacun d'eux pour une largeur équivalente (intervalle de 300 Å à peu près). Ces déterminations sont consignées dans le tableau précédent¹, qui contient aussi les autres données numériques que nous utiliserons pour interpréter le spectre d'absorption des substances albuminoïdes.

En négligeant, pour l'instant, les effets de l'alcalinisation, nous constatons que *la bande d'absorption du tryptophane coïncide remarquablement bien avec la bande des albuminoïdes*, tandis que les bandes de la phénylalanine et de la tyrosine sont notablement plus réfrangibles. Nous constatons, de plus, que la transparence pour les rayons extrêmes ultra-violetts de la phénylalanine, de la tyrosine et du tryptophane est plus grande que celle des albuminoïdes; l'écart est surtout considérable dans le cas de la phénylalanine. Il est tout naturel, d'ailleurs, que la plage terminale ultra-violette soit interceptée davantage sur les spectres des albuminoïdes, puisque ces substances renferment des noyaux (cystine, arginine, histidine, proline) relativement peu transparents pour les radiations les plus réfrangibles.

La comparaison des effets de l'*alcalinisation* sur les spectres des albuminoïdes, d'une part, et sur ceux de la phénylalanine, de la tyrosine et du tryptophane, d'autre part, permet de préciser quelque peu la part qui revient à chacun des noyaux précités. Il se trouve, en effet, comme je l'ai découvert, que l'alcalinisation n'influe pas au même degré ni

¹ Pour la phénylalanine, j'ai relevé les limites de la bande sur des spectrogrammes autres que ceux reproduits fig. 34 et 35, qui montrent la bande seulement trop étroite ou trop large.

dans le même sens sur les spectres de la phénylalanine, de la tyrosine et du tryptophane : *l'alcalinisation déplace un peu la bande d'absorption de la phénylalanine du côté le plus réfrangible, elle déplace beaucoup la bande d'absorption de la tyrosine du côté le moins réfrangible, elle déplace un peu la bande d'absorption du tryptophane du côté le moins réfrangible* (pour les valeurs numériques, consultez le tableau de la p. 90). Or, si nous considérons les effets de l'alcalinisation sur les spectres de l'ovalbumine et de la sérumalbumine — la teneur en tyrosine de l'ovalbumine étant de moitié inférieure, et sa teneur en phénylalanine d'un quart supérieure aux teneurs respectives de la sérumalbumine — nous constatons précisément que la bande d'absorption de la sérumalbumine est beaucoup plus déplacée vers le spectre visible que la bande d'absorption de l'ovalbumine : le spectre d'absorption de la sérumalbumine alcaline est extrêmement analogue à celui de la tyrosine alcaline, ce qui démontre, dans ce cas, l'action prédominante qu'exerce sur l'absorption le noyau tyrosinique. On n'est malheureusement pas encore fixé sur la teneur en tryptophane de ces deux albumines, ce qui ne nous permet pas de discuter la part qui revient au tryptophane dans le transfert de la bande. La sérumglobuline — qui est, elle aussi, beaucoup plus riche en tyrosine que l'ovalbumine — offre, en milieu alcalin, un spectre qui ressemble à celui de la sérumalbumine alcaline bien plus qu'à celui de l'ovalbumine alcaline. Ces quelques observations montrent que *les caractères spéciaux que présentent les spectres des diverses substances albuminoïdes sont en relation avec la teneur particulière en aminoacides absorbants de chacune de ces substances, et peut renseigner sur cette teneur.*

En résumé, mes recherches établissent que le spectre d'absorption ultra-violet des substances albuminoïdes tient à ce qu'il entre dans la constitution de ces substances toute une série de groupements absorbants.

Ce n'est pas à un noyau unique, comme le supposaient,

à tort, Soret et Blyth, qu'est due l'existence d'une bande d'absorption : les noyaux de la tyrosine, du tryptophane et de la phénylalanine doivent contribuer tous trois, quoiqu'inégalement, à produire la bande d'absorption ultra-violette des substances albuminoïdes ¹.

Pour élucider plus complètement, dans ses causes, le spectre d'absorption des substances albuminoïdes, de nouvelles recherches seraient nécessaires. Il faudrait connaître les propriétés d'absorption non pas seulement des dérivés isolés, mais aussi celles de ces dérivés mélangés. Ce ne serait d'ailleurs pas suffisant. Supposons que nous ayons réussi à déterminer qualitativement et quantitativement tous les dérivés d'une albumine donnée ; le spectre du mélange (en proportions conformes aux résultats de l'analyse) de tous les dérivés de cette albumine ne serait vraisemblablement pas rigoureusement superposable au spectre de l'albumine elle-même². On comprend, dès lors, tout l'intérêt qu'il y aurait, à ce point de vue, à examiner les spectres des polypeptides de synthèse de constitution bien connue.

En multipliant les observations dans des conditions variées, nous arriverons à déchiffrer plus complètement ce spectre d'absorption ultra-violet des substances albuminoïdes qui, entre autres enseignements, peut sans doute nous apprendre jusqu'à quel point les groupements (certains d'entre eux, tout au moins) que nous détachons par hydrolyse existent *préformés* dans les molécules albuminoïdes.

¹ Des cas où intervient seul un des noyaux précédents — la phénylalanine — nous sont offerts par la gélatine (albumoïde) et par l'anti-peptone (polypeptide) dont les spectres ont été décrits précédemment (14 et 16 b).

² Cette supposition peut être motivée, indépendamment des raisons d'ordre chimique, par le fait que les substances albuminoïdes sont des *colloïdes*, alors que les dérivés en question sont tous des *cristalloïdes*.

CHAPITRE III

Absorption des rayons ultra-violet par les protéides et leurs dérivés.

23. Classification des protéides examinées. — On désigne sous le nom de *protéides* des substances qui peuvent être considérées comme résultant de la combinaison d'une substance protéique (albuminoïde, histone, albumoïde) et d'une autre substance organique non protéique, cette dernière constituant le *groupement prosthétique* de la protéide. Les protéides sont donc des substances *protéiques copulées*.

Les principales catégories de protéides, généralement admises, sont les suivantes :

Les hémoglobines (et les hémocyanines) :

Les nucléines (et les nucléoalbuminoïdes) :

Les paranucléines (et les paranucléoalbuminoïdes) ;

Les glycoprotéides.

Il est douteux que les paranucléines et les glycoprotéides soient de véritables protéides. Ce ne sont, semble-t-il, que des *pseudo-protéides* que l'on ne peut distinguer qu'assez arbitrairement des simples protéiques. Il est préférable d'appeler ces corps, suivant le cas : protéiques phosphorés ou protéiques hydrocarbonés. Voici pourquoi : Les paranucléines sont censées formées par l'union d'un groupement protéique et d'un acide paranucléique. Or, les acides paranucléiques n'ont pas été, jusqu'à présent, isolés à l'état de pureté ; on a seulement pu obtenir des complexes phosphorés présentant encore la plupart des réactions de coloration des substances albuminoïdes. L'existence d'acides paranucléiques non albuminoïdes est actuellement hypothétique.

Quant aux glycoprotéides, ce sont seulement des protéiques présentant une richesse remarquable en glycosamine. le mode de liaison de la glycosamine ne différant pas sensiblement de ce qu'il est dans les molécules protéiques proprement dites. On ne voit donc pas pourquoi on les placerait à part des protéiques simples, alors qu'on ne sépare pas entre eux les protéiques contenant relativement beaucoup, ou peu, ou ne contenant pas de glycocolle, de tyrosine ou de tryptophane. Cette manière de voir, soutenue notamment par Abderhalden, semble en effet la plus correcte.

Pour ces motifs, j'ai cru devoir me borner à examiner les spectres d'absorption ultra-violets de quelques protéides typiques appartenant aux deux premières catégories : *oxyhémoglobine* de cheval, *oxyhémocyanine*¹ d'escargot, *nucléine* de la levure de bière.

Dans l'aperçu historique qui suit, je n'aurai à parler que des recherches de mes devanciers sur le spectre des oxyhémoglobines, les spectres des oxyhémocyanines et des nucléines n'ayant pas été l'objet de travaux antérieurs.

§ 1. — Absorption des rayons violets et ultra-violets par l'oxyhémoglobine.

24. Aperçu historique. — J.-L. Soret examina le premier, en 1878, l'absorption des rayons ultra-violets par l'oxyhémoglobine. « J'ai fait à la lumière solaire, dit-il, un petit nombre d'observations sur le spectre du sang oxygéné ; je n'ai pas trouvé de bande d'absorption dans l'ultra-violet proprement dit ; mais j'en ai observé une qui, à ma connaissance, n'a pas encore été signalée, dans le violet, entre G et h, plus près de cette dernière [raie]. Le sang était à un état de dilution tel que les deux bandes caractéristiques du spectre lumineux étaient nettement visibles. — La bande dans le

--

¹ J'exposerai plus loin (27) les raisons qui me font considérer l'hémocyanine comme étant une protéide.

violet se distingue très facilement avec l'oculaire fluorescent; elle est difficile à voir à l'oculaire ordinaire, à moins que l'on ne place un verre bleu devant la fente du spectroscope. Au delà on distingue les rayons ultra-violet; à ce degré de dilution, la lumière de l'étincelle est transmise jusqu'à 21¹ environ². »

Dans son mémoire de 1883³, Soret revient sur ce spectre du sang; il signale le fait que la photographie reproduit très bien la bande dans le violet, puis ajoute : « Avec le sang dilué au $\frac{1}{1000}$ (soit 1 cc. dans 1 litre). placé dans une auge de 10 mm. d'épaisseur, cette bande est très distincte; elle occupe à peu près la moitié de l'intervalle compris entre G et H, son centre tombant sur h : l'ultra-violet est transmis. — Avec le sang au $\frac{1}{600}$, elle remplit tout l'espace compris entre G et H : la région entre H et L est assombrie. — Avec le sang au $\frac{1}{400}$, elle déborde du côté de G d'une part et du côté de H d'autre part; tout le spectre ultra-violet paraît assombri. — Il y a du reste des différences notables suivant les échantillons...

« En employant la lumière des étincelles d'induction, l'oculaire fluorescent et l'appareil à épaisseur variable, on trouve, avec de grandes différences dans les valeurs numériques suivant les échantillons, que la bande du violet, s'étendant dans l'ultra-violet, se manifeste par ce que la raie du magnésium, $\lambda = 383 \mu\mu$ (près de L) disparaît avant la raie 9 du cadmium à laquelle correspond un maximum de transmission. Au delà on remarque deux nouvelles bandes d'absorption dont l'une, tombant sur 12, est probablement due à l'hémoglobine, tandis que l'autre, tombant sur 17, est évidemment celle de la sérine. Le maximum de transparence qui sépare ces deux bandes coïncide avec la raie du magnésium $\lambda = 309 \mu\mu$; le maximum suivant tombe sur 18, puis l'absorption augmente graduelle-

¹ Il s'agit de la ligne Cd 21 ($\lambda = 2419 \text{ \AA}$?).

² J.-L. SORET : *Recherches sur l'absorption, etc.* — Arch. des scienc. phys. et nat. LXI, 347, 1878.

³ SORET. — Loc. cit., 484.

ment jusqu'à 29 »¹. En 1890, d'Arsonval² fit paraître un mémoire sur la *Photographie des spectres d'absorption de l'hémoglobine et son emploi en physiologie et en médecine légale*. D'Arsonval devait ignorer les travaux de Soret, puisqu'il ne les cite pas. Il observe, au moyen de la photographie, que l'oxyhémoglobine (sang oxygéné) présente, indépendamment des deux bandes caractéristiques au voisinage des raies D et E de Fraunhofer, « une troisième bande beaucoup plus large, dit-il, et qui est tout à fait remarquable par la netteté avec laquelle elle se termine dans l'ultra-violet. Ainsi, chose inattendue, l'hémoglobine oxygénée, au lieu d'éteindre régulièrement le violet et l'ultra-violet, comme l'examen à l'œil semblait l'indiquer, l'hémoglobine [dis-je] est absolument transparente pour les radiations ultraviolettes à partir d'une certaine longueur d'onde. Quelle que soit la concentration de cette solution, cette bande occupe toujours le même espace et se montre d'une sensibilité excessive. Quand le sang est dix fois trop dilué, pour qu'on aperçoive à l'œil les deux bandes du jaune, la photographie accuse encore très nettement la bande d'absorption de l'ultra-violet.

« Il existe d'autres bandes dans l'ultra-violet, mais qui sont moins nettes que celle que je viens de signaler; j'y reviendrai plus tard. Dans cette note, il me suffit d'indiquer que cette première bande semble s'étendre de la raie G, un peu au delà de la raie H₂, et que, par conséquent, elle correspond à des longueurs d'onde allant de 430 à 393 millièmes de millimètres environ. »

La question fit un progrès important par les recherches étendues que publia Gamgee en 1896³. Ce physiologiste exa-

¹ Cf. Soret : *Sur le spectre d'absorption du sang dans la partie violette et ultra-violette*. — C. R. Acad. des Sciences, XC VII, 1269, 1883.

² A. d'ARSONVAL. — Arch. de physiol. norm. et pathol., 5^e sér., II, 340, 1890.

³ A. GAMGEE : *On the Absorption of the extreme violet and ultra-*

mina, par la méthode spectrographique, l'absorption des radiations comprises entre les raies F et Q de Fraunhofer (λ 4861 Å — λ 3286 Å). Il observa que du sang artériel défibriné de bœuf, dilué avec de 400 à 600 volumes d'eau distillée ou d'eau contenant un millième de soude, montre, en couche de 10 mm. d'épaisseur, une bande d'absorption s'étendant de λ 404 $\mu\mu$ à λ 424 $\mu\mu$, c'est-à-dire occupant la plus grande partie de l'espace compris entre G et H. Avec du sang étendu seulement de 250 parties d'eau, la bande est beaucoup plus intense, mais elle conserve presque les mêmes limites, quoique ses bords ombrés se rapprochent de G et H. Avec une solution à 1 p. 100, la lumière passe parfaitement de F à G : la lumière est transmise avec difficulté de L à N (λ 3819 Å à λ 3580 Å), le reste de l'ultra-violet étant complètement absorbé. Une solution contenant 5 p. 100 de sang absorbe tout le spectre solaire, à l'exception d'une région entre F et G, mais plus près de F (λ 460 $\mu\mu$ à λ 490 $\mu\mu$).

Gamgee dit qu'il a aussi employé, au cours de cette étude, de l'oxyhémoglobine purifiée par plusieurs recristallisations ; mais il se borne à mentionner que les observations du spectre de ce corps peuvent être faites tout aussi bien avec du sang oxygéné dilué.

Outre l'oxyhémoglobine, Gamgee a examiné l'hémoglobine, la carboxyhémoglobine, l'azotoxyhémoglobine, l'hémochromogène, l'hématine, l'hémine, la méthémoglobine et l'hématoporphyrine. Notons, dès maintenant, que l'auteur affirme n'avoir pas pu constater de bande d'absorption, soit dans le violet, soit dans l'ultra-violet, en examinant des dilutions successives d'une solution alcaline d'hématine. Il ne s'est pas occupé de l'hématine acide ¹.

violet Rays of the Spectrum by Haemoglobin, its Compounds and Certain of its Derivatives. — *Zeitschr. f. Biol.*, XXXIV, N. F. XVI. 505-529 (avec 3 planches spectrographiques), 1896.

¹ Dans sa « Croonian Lecture » : *On certain Chemical and Physical Properties of Haemoglobin*, GAMGEE est revenu sur le spectre ultra-violet de l'hémoglobine, et a avancé que, d'après ses observations,

Entre le mémoire de d'Arsonval et celui de Gamgee, nous aurions pu mentionner la thèse de H. Grabe¹, parue en 1892, dans laquelle se trouvent d'intéressantes recherches sur les spectres d'absorption violets et ultra-violets de l'hémoglobine et de plusieurs de ses composés et dérivés. Ce travail a échappé à Gamgee ; il semble être passé inaperçu jusqu'à ce que Rudolf Kobert² en ait rappelé l'existence à propos d'observations personnelles sur le même sujet qu'il publia en 1900. Cet auteur, après avoir dit que les spectrogrammes de Grabe manquent de netteté et ne sont pas à cause de cela convenablement utilisables, expose les résultats qu'il a obtenus en examinant l'absorption des rayons violets et ultra-violets par l'hémoglobine, l'oxyhémoglobine, la carboxyhémoglobine, la méthémoglobine et la cyanméthémoglobine. Ayant essayé, sans succès, de photographier ces spectres d'une façon satisfaisante³, il eut recours à la projection sur un écran de platinocyanure de baryum. Ce procédé avait déjà été employé par Gamgee, mais Kobert semble n'avoir pas eu connaissance du travail du savant anglais. Les résultats ainsi obtenus par Kobert manquent absolument de précision : ni la concentration, ni l'épaisseur des liqueurs

l'hémoglobine recristallisée ne présente pas de bande d'absorption correspondant soit à la raie 14, soit à la raie 17 du Cd. — *Proceedings of the Royal Society*. LXX, 79. 1902.

¹ H. GRABE : *Untersuchungen des Blutfarbstoffes auf sein Absorptionsvermögen für violette u. ultraviolette Strahlen*. — Dissert. Dorpat, 1892. (35 pages et 1 planche).

² RUD. KOBERT : *Beiträge zur Kenntnis der Methämoglobine*. — Anhang : *Ueber das Absorptionsvermögen des Blutfarbstoffes u. seiner Derivate f. violette u. ultraviolette Strahlen*. — *Pflüger's Archiv*, LXXXII, 626, 1900.

³ « Beim Photographiren ging es uns aber ähnlich wie Grabe, d. h. es ergaben sich schwer verständliche, vieldeutige Bilder. Ich kam zu der Ueberzeugung, dass die Verfolgung der in Rede stehenden Frage mit Hilfe der Photographie eine recht mühsame ist, welche sich nur lohnen wird, falls man ein länger dauerndes Spezialstudium darauf verwendet. » — (loc. cit. 628 et 629).

traversées par la lumière ne sont indiquées ; aucune détermination n'est exprimée en longueurs d'onde, etc. Kobert, n'ayant pu réussir à obtenir de bonnes photographies, chargea de cette étude un de ses élèves, Reinert Hiller ¹, qui en fit le sujet de sa thèse en 1904. Hiller critique sévèrement les photographies de Grabe ², mais les siennes ne valent guère mieux et son travail est, dans l'ensemble, bien inférieur à celui de Grabe. Cette thèse ne mérite pas d'être analysée en détail. Le sujet est traité d'une façon tout à fait superficielle et avec un singulier défaut de rigueur ; le titre lui-même est déjà incorrect. Tel était l'état de la question quand j'ai abordé les recherches dont je vais exposer les résultats.

Il me faut seulement ajouter qu'alors que mes recherches étaient terminées, mais non encore publiées, L. Lewin, A. Miethe et E. Stenger présentèrent, à l'Académie des Sciences de Paris, une note sur la *Détermination en longueurs d'onde des raies d'absorption photographiées des matières colorantes du sang* ³. Je communiquai peu après, à la Société de Biologie, les résultats que j'avais obtenus en examinant les spectres d'absorption violets et ultra-violets de l'hématine ⁴ et de l'oxyhémoglobine ⁵. Depuis, Lewin et ses collaborateurs ont publié un mémoire d'ensemble ⁶ où leurs recherches

¹ R. HILLER : *Die Absorptionsstreifen des Blutes und seiner Derivate im Ultraviolett*. — Dissert., Rostock, 1904. (32 p. et 5 planches.)

² « Seine Photogramme (de Grabe) sind jedoch unbrauchbar, da sie eine Unmenge von Linien enthalten, welche mit dem Blute gar nichts zu thun haben. » — (loc. cit., 5).

³ L. LEWIN, A. MIETHE et STENGER. — C. R. Acad. des Sciences, CXLIII, 115, 1906.

⁴ DUÉRÉ : *Sur l'absorption des rayons violets et ultra-violets par l'hématine*. — C. R. Soc. de Biol., LXI 656, 1906.

⁵ DUÉRÉ : *Sur l'absorption des rayons violets et ultra-violets par l'oxyhémoglobine*. — C. R. Soc. de Biol., LXI, 718, 1906.

⁶ L. LEWIN, A. MIETHE u. E. STENGER : *Über die durch Photographie nachweisbaren spektralen Eigenschaften der Blutfarbstoffe und anderer Farbstoffe des thierischen Körpers*. — Pflüger's Archiv, CXVIII, 80, 1907. (12 figures dans le texte et 1 planche.)

se trouvent exposées en détail. Ces auteurs ne citent pas mes notes parues près de six mois avant la publication de leur mémoire. Je reviendrai plus loin sur les travaux de ces savants, qui n'ont guère contribué, comme on le verra, à éclairer les questions que j'ai traitées.

25. Spectre de l'oxyhémoglobine cristallisée. — J'ai utilisé de l'oxyhémoglobine de cheval recristallisée deux fois, préparée au moyen du procédé de Lapicque et Gilardoni¹. Voici, empruntée presque textuellement à la note de ces auteurs, la description de ce procédé de préparation :

Du sang de cheval défibriné est filtré sur étamine et centrifugé; le sérum est décanté de façon à enlever la couche des globules blancs; les globules rouges, agités avec une solution

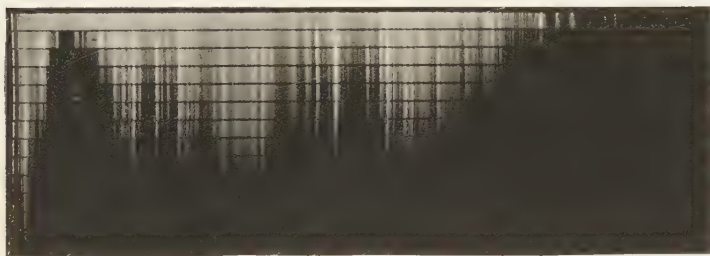


Fig. 45 — Oxyhémoglobine.

de Na Cl à 3 p. 100, sont de nouveau centrifugés: le liquide de lavage est décanté; les globules repris par environ deux volumes d'eau distillée se dissolvent; on centrifuge pour séparer les stromas; la solution limpide est additionnée d'alcool de façon à atteindre 25°, et on met à la glacière.

La première cristallisation, examinée au microscope, donne des cristaux bien nets et bien propres; ces cristaux, séparés des eaux mères par centrifugation, lavés avec l'alcool froid à 25°, redissous dans l'eau, sont remis à cristalliser comme la première fois. La recristallisation est opérée encore une fois de la même manière. Les cristaux sont alors recueillis sur un filtre Schleicher et Schüll, essorés à la trompe, lavés à l'alcool à 25°, puis à l'eau glacée et dissous dans l'eau distillée.

¹ L. LAPICQUE et H. GILARDONI: *Sur la teneur en fer de l'hémoglobine de cheval.* — C. R. Soc. de Biol., LII, 459, 1900.

L'oxyhémoglobine ainsi obtenue contient de 0,29 à 0,30 de fer p. 100.

Pour titrer la liqueur, on en a prélevé 10 cc. qui furent évaporés dans le vide sec à la température ordinaire, puis desséchés à 110° jusqu'à poids constant. On a utilisé pour l'examen spectrographique une solution décime contenant 0^{gr},774 d'oxyhémoglobine par litre¹.

ÉPAISSEUR en mm.	RADIATIONS ABSORBÉES (λ)			DERNIÈRE RAIE λ
	BANDE I	R. MOYENNE	BANDE II	
2	4186—4119	4153		2265
4	4245—4058	4152		2313
6	4272—3996	4134		2365
8	4326—3955	4141		2382
10	4349—3918	4134	(2802—2667)	2394
12	4384—3841	4113	(2833—2663)	2427
14	4387—3821	4104	(2873—2663)	2445
16	4387—3767	4077	(2873—2628)	2470
18	4416—3740	4078	(2881—2628)	2476
20	4447—3684	4066	2927—2614	2493
23	4475—3640	4058	2948—2614	2502
26	4573—3261(?)	3917	3000 — — — ➤	2981

Ainsi, en faisant croître progressivement l'épaisseur à partir de l'épaisseur zéro, on voit apparaître d'abord une bande d'absorption seulement dans le violet; cette bande déborde bientôt d'une part dans l'indigo et d'autre part dans l'ultra-violet, mais un peu plus de ce dernier côté, de telle sorte que la longueur d'onde de la raie médiane absorbée diminue constamment. Quand l'épaisseur atteint 1 centimètre, on observe, en plus de la bande précédente (BANDE I ou γ), un léger obscurcissement en deçà et au delà de la raie très éclatante λ 2749 Å (Cd 17); enfin,

¹ Une fois la photographie terminée, j'ai recherché si la liqueur, qui avait été exposée aux radiations ultra-violettes, ne contenait pas de méthémoglobine. Une couche de 10 cm. d'épaisseur ne montrait aucune apparence de la bande caractéristique de la méthémoglobine dans le rouge. Il n'y avait donc pas eu d'altération appréciable de l'oxyhémoglobine.

l'épaisseur augmentant encore, cette région s'assombrit davantage et il en résulte l'apparition d'une nouvelle bande d'absorption (BANDE II ou δ).

Les limites de chacune des deux bandes, dans le cas de la largeur moyenne, sont : λ 4349- λ 3918 Å (BANDE I) et λ 2927- λ 2614 Å (BANDE II).

Ces résultats, considérés de plus près, suggèrent quelques remarques :

En premier lieu, on peut constater que, *même dans le cas d'un faible accroissement d'épaisseur* de la couche traversée par la lumière, *il y a un élargissement notable de la BANDE I*. Ce fait ressort plus nettement à l'inspection du tableau suivant où est relevée la largeur de la bande (évaluée par la différence entre les longueurs d'onde des raies marginales) sous chacune des épaisseurs consécutives.

ÉPAISSEUR DE LA SOLUTION	LARGEUR DE LA BANDE D'ABSORPTION I
2 mm.	67 Å
4 »	187 »
6 »	276 »
8 »	371 »
10 »	431 »
12 »	543 »
14 »	566 »
16 »	620 »
18 »	676 »
20 »	763 »
23 »	835 »
26 »	(?)1312 »

On voit donc qu'il est inexact de dire avec d'Arsonval : que la bande en question occupe toujours le même espace quelle que soit la concentration de cette solution ; ou même, d'une façon moins absolue, avec Gamgee : que dans de grandes limites de concentration, l'épaisseur de la couche étant invariable, la largeur et le caractère de la bande de Soret restent très constants, l'augmentation dans la proportion d'oxyhémoglobine influençant plus l'intensité de la bande que sa largeur.

En second lieu, on voit qu'en employant une solution peu concentrée (0^{re},774 par litre) la BANDE I est relativement très accusée sous une faible épaisseur (2 mm.). En photographiant le spectre de cette même solution sous l'épaisseur de 1 mm. seulement, j'ai constaté que la bande était encore parfaitement nette; or, dans ces conditions, il n'y avait aucune apparence des deux bandes du spectre visible. On doit donc reconnaître, avec tous les auteurs qui se sont occupés de la question, que la bande de Soret apparaît encore avec des solutions trop diluées pour permettre d'apercevoir les bandes entre D et E dans le spectre visible¹. D'Arsonval exagère pourtant en disant²: « Une solution qui, à l'œil nu, ne présente pas trace des deux bandes d'absorption du jaune donne encore très nettement sur la plaque photographique la troisième bande, *même après avoir été étendue de dix fois son volume d'eau* ». Mes propres observations me conduisent à admettre que les limites sont approximativement les suivantes, dans chacun des deux cas : *la photographie ne permet plus de constater nettement la bande dans le violet si, sous une épaisseur de 10 mm., la dilution est supérieure à 1 p. 30 000*; et l'œil ne distingue plus les deux bandes entre D et E si, sous la même épaisseur de 10 mm., la dilution est supérieure à 1 p. 10 000. Ces résultats concordent assez bien avec les déterminations de Lewin et de ses collaborateurs.

Nous arrivons, en dernier lieu, à nous occuper de l'absorption des rayons ultra-violets plus réfringibles que ceux répondant à la BANDE I. Une solution d'oxyhémoglobine pure,

¹ Le fait qu'on peut déceler la présence d'oxyhémoglobine plus facilement par l'examen de cette bande que par celui des deux autres moins réfringibles a trouvé son application en médecine légale. (Voir D. Mirro : *Sulla utilizzazione dello spettro fotografico (stria γ del Soret) dell' emoglobina e dei suoi derivati nella ricerca medico-legale del sangue*. — Arch. di farmac. speriment. e scienze aff., IV, 529, 1905.) Je connais ce travail seulement par une analyse.

² D'ARSONVAL. — Loc. cit., 345.

examinée sous une épaisseur convenable pour une concentration donnée, montre, comme on l'a vu plus haut, une seconde bande d'absorption à cheval sur la raie Cd 17 (BANDE II), et seulement cette seconde bande. Rapprochons cette constatation des assertions des auteurs :

D'après Soret, le sang oxygéné montre, au delà de la bande du violet, deux autres bandes tombant l'une sur Cd 12 et l'autre sur Cd 17. D'après d'Arsonval, il existe dans l'ultra-violet d'autres bandes (que celle du violet). D'après Grabe, il y a sur Cd 12 et sur Cd 17 un certain degré d'obscurcissement, mais il ne s'agit pas de véritables bandes d'absorption. D'après Gamgee, l'oxyhémoglobine ne présente pas de bande d'absorption correspondant soit à Cd 14¹, soit à Cd 17. D'après Lewin, Miethe et Stenger, la matière colorante du sang n'offre pas de bande d'absorption exclusivement ultraviolette ; ces savants affirment que les données de Soret sur ce point sont inexactes. (Ils considèrent aussi comme une erreur l'assertion de Soret qu'une bande d'absorption serait observable au voisinage de Cd 17 et appartiendrait au sérum du sang.²)

Mes recherches me font donc admettre :

1^o *Contrairement à Soret, mais d'accord avec Gamgee, que l'oxyhémoglobine ne présente pas de bande d'absorption sur Cd 12 ;*

2^o *Contrairement à d'Arsonval, que l'oxyhémoglobine*

¹ C'est par inadvertance que Gamgee désigne la raie Cd. 14 ; il veut évidemment parler de Cd 12 puisqu'il ajoute qu'il est sur ce point en contradiction avec Soret.

² On a vu plus haut (11 A) que la sérumbulmine et la sérumboglobuline présentent une bande d'absorption au voisinage de Cd 17. Ce sont donc manifestement les savants allemands qui font erreur.

Il est d'ailleurs incompréhensible que ces auteurs se prononcent sur l'existence de bandes au voisinage de Cd 12 (λ 3286 Å) et de Cd. 17 (λ 2749 Å), car ils donnent à entendre qu'ils n'ont pas poussé l'examen au delà de λ 360 $\mu\mu$.

ne présente pas, dans l'ultra-violet, plusieurs bandes d'absorption¹, mais une seule (sur Cd 17);

3° Contrairement à Soret², à Gamgee et à Lewin Miethe et Stenger, que l'oxyhémoglobine présente une bande d'absorption sur Cd 17.

Il nous faut voir maintenant quelle interprétation comporte ce spectre à deux bandes de l'oxyhémoglobine. En vue de répondre à cette question, j'ai étudié les spectres d'absorption violets et ultra-violet des deux constituants essentiels de l'oxyhémoglobine : l'hématine et la globine.

26. Spectres des dérivés de l'oxyhémoglobine.

A. **Hématine.** — J'ai utilisé de l'hématine pure, obtenue à partir de l'acétylhémine préparée en traitant du sang de cheval selon la méthode de Schälfejeff, améliorée par Nencki et Zaleski³.

Un litre d'acide acétique glacial, saturé de chlorure de sodium, fut chauffé au bain marie à 90-95°; on y introduisit peu à peu 200 cc. de sang de cheval défibriné, filtré sur étamine, et laissa le tout au bain-marie jusqu'à ce que la température atteignit 90° (environ 10 minutes). La liqueur fut alors filtrée à chaud; après 24 h. de repos, les cristaux qui s'étaient déposés furent recueillis et lavés avec de l'eau contenant 2 p. 1000 d'acide chlorhydrique, puis avec de l'alcool faible contenant également 2 p. 1000 d'acide chlorhydrique, et finalement séchés dans le vide.

En examinant à un fort grossissement les cristaux avant

¹ Le spectrogramme que je publie semble indiquer qu'il y a un minimum de transmission sur Cd 10. Je n'ai pas retrouvé nettement ce minimum sur des spectrogrammes pris en employant comme source de lumière des étincelles éclatant entre des électrodes simplement en fer. La réalité de ce minimum me semble douteuse; en tout cas, il serait absolument impropre de parler de bande.

² Rappelons, en effet, que Soret attribuait l'existence de cette bande uniquement à la présence des substances albuminoïdes du sérum.

³ M. NENCKI U. J. ZALESKI. — Zeitschr. f. physiol. Chem., XXX, 330, 1900.

les lavages, je me suis convaincu qu'ils n'étaient pas souillés de substance amorphe. La photographie d'une des préparations est reproduite ci-dessous.

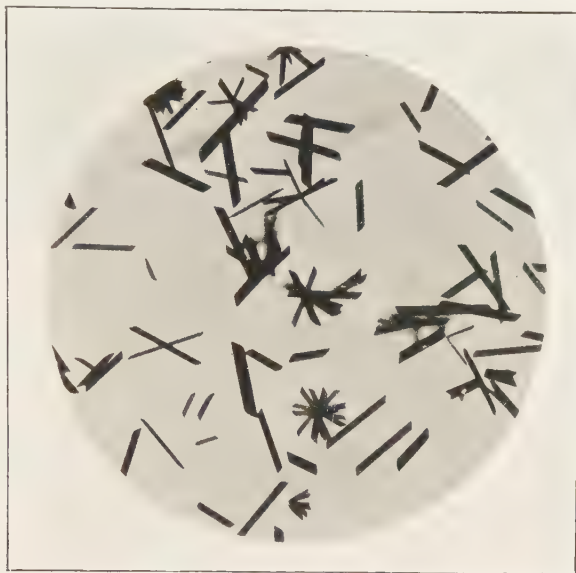


Fig. 46 — Cristaux d'acétylhémine.

Pour isoler l'hématine pure, on procéda comme le recommande Thierfelder¹ : les cristaux d'acétylhémine furent dissous à froid dans de la solution de potasse extrêmement diluée ; la liqueur filtrée fut additionnée d'acide chlorhydrique dilué ; le précipité formé fut recueilli et lavé à l'eau chaude jusqu'à disparition de toute réaction des eaux de lavage avec le nitrate d'argent. On réitéra la dissolution dans la potasse et la précipitation par l'acide chlorhydrique, ce qui est nécessaire pour débarrasser entièrement le produit de chlore. L'hématine, soigneusement lavée, fut desséchée à poids constant dans le vide sulfurique.

¹ F. HOPPE-SEYLER'S Handbuch d. physiol. u. pathol. Chem. Analyse, 7^{te}. Aufl., 277, 1903.

a) Hématine acide. — Un décigramme d'hématine fut dissous dans 996 cc. d'alcool absolu (99,8 p. 100), additionnés de 4 cc. de liqueur normale d'acide sulfurique.

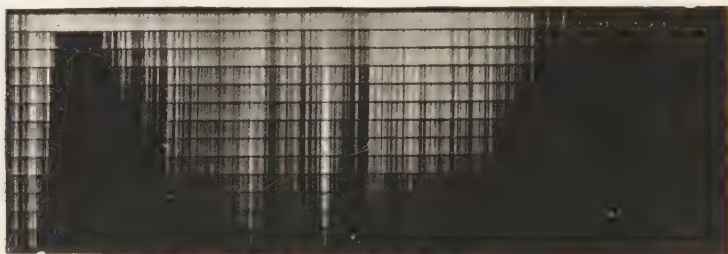


Fig. 47 — Hématine acide.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	RAIE MOYENNE λ	DERNIÈRE RAIE λ
0,5	4058—3918	3988	2100
1	4119—3842	3981	2139
1,5	4146—3740	3943	2139
2	4153—3684	3919	2139
2,5	4167—3684	3926	2144
3	4210—3640	3925	2195
3,5	4219—3611	3915	2265
4	4228—3573	3901	2265
4,5	4237—3466	3852	2313
5	4242—3404	3823	2382
5,5	4245—3345	3795	2382
6	4245—3345	3795	2394

β) Hématine alcaline. — Un décigramme d'hématine fut dissous dans 996 cc. d'eau, additionnés de 4 cc. de liqueur normale de soude.

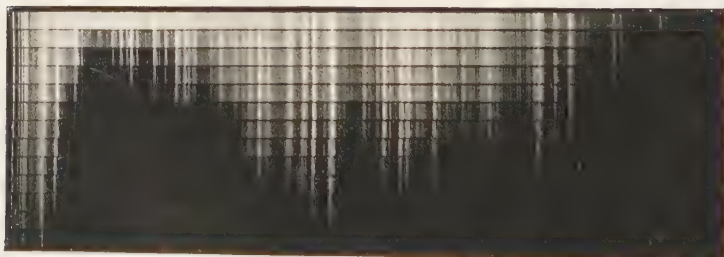


Fig. 48 — Hématine alcaline.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	RAIE MOYENNE λ	DERNIÈRE RAIE λ
0,5	(3955—3821)	3888	2100
1	(3996—3740)	3868	2100
1,5	3996—3740	3868	2139
2	3996—3740	3868	2139
2,5	4046—3611	3829	2139
3	4058—3466	3762	2144
3,5	4058—3345	3702	2170
4	4119—3303	3711	2195
4,5	4190—3177	3684	2204
5	4245—3138	3692	2265
5,5	4245—3072	3659	2265
6	4245—3044	3645	2288

Nous pouvons résumer ainsi les résultats précédents :
Le spectre d'une solution d'hématine à 1 p. 10 000 présente, sous l'épaisseur de 1 mm., une bande d'absorption dont le milieu tombe soit dans la portion terminale du violet (solution alcoolique acide), soit dans la portion initiale de l'ultra-violet (solution aqueuse alcaline). A mesure que l'épaisseur augmente, la bande s'élargit, mais non pas symétriquement, l'absorption portant davantage sur les rayons les plus réfringibles.

La transparence pour les radiations ultra-violettes moyennes et extrêmes est relativement considérable. (Tout l'ultra-violet est intercepté seulement quand l'épaisseur atteint 9 mm. environ.)

Une rapide revue des conclusions auxquelles sont parvenus les auteurs qui se sont occupés jusqu'à présent du spectre d'absorption violet et ultra-violet de l'hématine ne manquera pas d'intérêt :

Grabe a trouvé que l'hématine alcaline donne une bande dans le violet (et des obscurcissements sur Cd 12 et Cd 17), tandis que l'hématine acide n'en donne pas. Il opérait avec le sang traité à chaud soit par l'ammoniaque, soit par l'acide acétique. Ces résultats sont dénués d'intérêt pour nous, puisque l'auteur n'a pas opéré avec des produits purs ¹.

¹ Le fait que l'hématine pure ne peut être transformée en hémochromogène par les agents réducteurs, alors que cette transformation

Gamgee a examiné une solution d'hématine pure dans l'eau alcalinisée par la soude; il n'a pu constater de bande ni dans le violet ni dans l'ultra-violet ¹. Il n'a pas examiné l'hématine en solution acide.

Lewin et ses collaborateurs n'ont eu également que des résultats négatifs dans tous les cas ².

L'échec de Gamgee et de Lewin tient probablement à ce que ces auteurs n'ont pas examiné des liqueurs assez diluées. Ils n'auront pas suffisamment tenu compte du fait que l'hématine ne représente qu'une très petite fraction du poids de l'oxyhémoglobine: 4,47 p. 100 d'après Lawrow ³.

Je conclus donc: **contrairement aux assertions de Gamgee et de Lewin, Miethe et Stenger, l'hématine pure,**

s'effectue si aisément lorsqu'on opère avec l'hématine mélangée aux autres constituants du sang, constitue un argument qu'on peut invoquer à l'appui de la critique formulée ici.

¹ ...« A solution of hæmatin however dilute produces a general absorption of the ultra-violet and violet rays and I have hitherto been unable by examining successive dilutions to observe any absorption band either in the extremo violet or ultra-violet. » — (Zeitschr. f. Biol., mémoire cité, p. 520.)

² « Die bei allen untersuchten Blutfarbstoffderivaten, bei Verwendung von geeignetem Plattenmaterial und Zirkoulicht als abgegrenzter Streifen aufnehmbare *Absorption an der Ultraviolettgrenze* ist in keiner hämatinhaltigen Flüssigkeit darzustellen gelungen, weder in saurer, noch in alkalischer Reaktion, nicht in wässriger, alkoholischer oder Acetonlösung gab sich etwas anderes als eine bei einer bestimmten Wellenlänge erscheinende einseitige Absorption nach Ultraviolett zu erkennen, wie immer man auch die Konzentration der Lösung und die Expositionszeiten wählen mochte. Auch die Untersuchung mit dem Quarzspektrographen gab kein anderes Resultat. » — (Pflüger's Arch., mémoire cité, p. 101.) Dans ce mémoire, les auteurs reproduisent le tableau publié dans leur note à l'académie des sciences (9 juillet 1906); mais — après avoir relevé les longueurs d'onde à partir desquelles commence l'absorption unilatérale du côté de l'ultra-violet — ils suppriment les mots « avec indication d'une bande d'absorption profonde » qui se trouvaient dans leur première communication: nouvelle preuve de leur négation de la bande d'absorption en cause.

³ LAWROW. — Loc. cit.

soit en solution alcaline, soit en solution acide, offre une bande d'absorption à la limite du violet et de l'ultra-violet; elle est relativement très transparente pour les rayons plus réfrangibles.

B. Globine. — J'ai décrit précédemment (26 b) le mode de préparation et le spectre d'absorption de la globine extraite de l'oxyhémoglobine de cheval recristallisée deux fois.

La bande d'absorption de la globine dans la région avoisinant Cd 17 coïncide presque exactement avec la bande que présente l'oxyhémoglobine dans la même région.

Je tiens à faire remarquer que la très petite quantité d'hématine que renferme toujours la globine la mieux purifiée est insuffisante pour produire une bande à la frontière du violet et de l'ultra-violet, sous l'épaisseur qui fait apparaître d'une façon parfaitement nette la bande sur Cd 17.

Interprétation du spectre d'absorption de l'oxyhémoglobine. — Les constatations que nous venons de faire nous permettent d'interpréter aisément le spectre de l'oxyhémoglobine. Elles nous autorisent à conclure que la constitution de l'oxyhémoglobine se trouve exprimée par son spectre d'absorption violet et ultra-violet, puisque ce spectre présente deux bandes, dont l'une est signalétique de l'hématine et l'autre de la globine.

Cette conclusion me paraît absolument évidente et certaine, bien que la bande de l'hématine (soit en solution alcoolique acide, soit en solution aqueuse alcaline) se trouve être un peu plus réfrangible que la bande correspondante de l'oxyhémoglobine. Il est regrettable que, d'une part, l'hématine soit insoluble dans l'eau pure ou acidifiée, et que, d'autre part, l'oxyhémoglobine soit insoluble dans l'alcool et décomposée par les alcalis: ce qui rend impossible la comparaison des spectres de ces deux corps dans des conditions de dissolution identiques.

§ 2. — Absorption des rayons ultra-violet par l'oxyhémocyanine.

27. Constitution de l'hémocyanine. — Obtention de l'oxyhémocyanine d'escargot cristallisée. L. Frédéricq¹ a désigné sous le nom d'*oxyhémocyanine* la substance bleue qui joue le rôle de pigment respiratoire chez un grand nombre d'invertébrés. Il a admis que l'hémocyanine présente avec l'hémoglobine non seulement une similitude de fonction, mais aussi une analogie de constitution: le cuivre tenant dans la molécule d'hémocyanine la place qu'occupe le fer dans la molécule d'hémoglobine.

Ces faits n'ont eu longtemps qu'une base expérimentale assez fragile; ils avaient même été mis en doute par Kruckenberg et surtout par F. Heim², quand je m'occupai de la question en 1899³. Voici en quels termes Frédéricq¹ a apprécié la portée de mon travail: « La théorie de l'hémocyanine cuprique, si intéressante au point de vue de la physiologie générale, demandait une revision. C'est ce travail qu'a entrepris Ch. Dhéré..... L'hémocyanine se trouve ainsi réintégrée dans la catégorie des protéides métallifères ». Je crois avoir démontré nettement, en effet, dans la note à laquelle fait allusion Frédéricq et dans une note complémentaire :

¹ L. FRÉDÉRICQ : *Sur l'hémocyanine, substance nouvelle du sang de Poulpe*. — C. R. Acad. d. Sciences, LXXXVII, 996, 1878.

² F. HEIM : *Etudes sur le sang des crustacés décapodes*. — Thèse, Paris, 1892.

³ DHÉRE : *Le cuivre hémétique des invertébrés et la capacité respiratoire de l'hémocyanine*. — C. R. Soc. de Biol., LII, 458, 1900.

⁴ L. FRÉDÉRICQ : *Revue annuelle de physiologie*. — in Rev. gén. des sciences, XII, 801, 1901.

⁵ DHÉRE : *Quelques nouveaux documents concernant le cuivre hémétique, etc.* — C. R. Soc. de Biol., LV, 1161, 1903. Une partie des faits communiqués dans cette note (les déterminations de la capacité respiratoire) ont été acquis dès 1900.

que la teneur en cuivre du sang de divers mollusques et crustacés va à peu près de pair avec leur capacité respiratoire.

Mes recherches, ainsi que celles de la plupart des auteurs qui se sont occupés de la question, justifient certainement la place à laquelle Frédéricq range l'hémocyanine : ce pigment doit être compté parmi les protéides. Remarquons, toutefois, que, l'on n'a pas réussi jusqu'à présent à démontrer l'existence dans la molécule d'hémocyanine d'un groupement prosthétique analogue à l'hématine de l'hémoglobine. Frédéricq avait admis que le traitement de l'hémocyanine par les acides chlorhydrique ou nitrique permet d'isoler l'hématine cuprique à l'état de sels ; mais Henze¹ a prouvé analytiquement qu'une telle conclusion est illégitime. Couvreur et Rongier² ont prétendu que par l'action de la chaleur ou de l'alcool sur l'hémocyanine on sépare une partie insoluble comparable à une hématine ; c'est là, comme je l'ai fait remarquer³, une interprétation abusive de faits déjà connus. Néanmoins, je suis porté à admettre l'existence de cette hématine cuprique en me fondant sur l'observation du spectre d'absorption ultra-violet de l'oxyhémocyanine. En examinant l'absorption des rayons ultra-violet par le sang à hémocyanine de l'escargot, j'ai découvert, en effet, que ce sang montre un spectre à deux bandes d'absorption. (voir fig. 50, p. 116), l'une de ces bandes coïncidant avec celle des substances albuminoïdes (sur Cd 17), l'autre, moins réfrangible, ne répondant à aucune bande connue. Je me suis demandé si cette dernière bande n'appartiendrait pas à l'oxyhémocyanine. Pour répondre à cette question, il fallait d'abord trouver le moyen de préparer à l'état de pureté l'oxyhémocya-

¹ M. HENZE: *Zur Kenntniss des Hämocyanins.* — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, XXXIII, 370, 1901.

² E. COUVREUR ET RONGIER: *Sur les dérivés de l'hémocyanine.* — *C. R. Soc. de Biol.*, LIV, 1476, 1902.

³ DHÉRÉ: *Remarques sur la note de M. Couvreur.* — *C. R. Soc. de Biol.*, LV, 1338, 1903.

nine d'escargot. Je suis parvenu à obtenir de l'oxyhémocyanine cristallisée et pure au moyen de la technique suivante ¹.

Du sang d'escargots (*Helix pomatia*) en hibernation fut dialysé, dans un sac de collodion, en présence d'eau distillée qu'on renouvelait matin et soir. Le récipient était constamment entouré de neige et placé dans la glacière. A la fin du septième jour de dialyse, le sang était encore parfaite-



Fig. 49 — Cristaux d'oxyhémocyanine d'escargot.

ment limpide. Dans le cours du huitième jour, il devint très trouble et abandonna bientôt un abondant précipité; en même temps, la coloration azurée de la liqueur pâlit. Le seizième jour, on arrêta la dialyse; il y avait au fond du sac un précipité dont le volume pouvait correspondre à 16 environ

¹ Duéré: *Sur la préparation et sur quelques propriétés de l'oxyhémocyanine d'escargot cristallisée.* — C. R. Acad. des Sciences, CXLVI, 784, 1908; et: *Sur quelques propriétés de l'oxyhémocyanine cristallisée.* — C. R. Soc. de Biol., LXIV, 788, 1908.

du volume du sang traité ; ce dépôt présentait, dans ses 2/3 inférieurs où il était fortement tassé, une coloration d'un bleu sombre. La liqueur superposée était sensiblement incolore et resta telle après agitation à l'air. En examinant le dépôt au microscope (gr. = 110 et 390), on s'aperçut qu'il était constitué de cristaux sans mélange de substance amorphe. Ces cristaux se présentent sous forme d'étoiles à 6 pointes ordinairement régulières ; ils n'offrent pas de double réfraction appréciable quand on les examine à la lumière polarisée, même avec interposition d'une lame de gypse. La figure 49 représente la photographie de quelques-uns de ces cristaux colorés par la fuchsine ¹. [Les cristaux ont été introduits dans de l'alcool fort, additionné d'une trace d'acide acétique, mélange dans lequel on peut les conserver sans altération de forme. Après évaporation de l'alcool, on a coloré à froid au moyen d'une solution de fuchsine, lavé, desséché et monté dans le baume.]

Pour purifier cette oxyhémocyanine, les cristaux furent séparés des eaux mères par centrifugation, parfaitement essorés, puis lavés à l'eau distillée dans laquelle ils sont pratiquement insolubles à la température ordinaire, et dissous dans de l'eau additionnée d'une trace d'acide acétique. [L'oxyhémocyanine cristallisée se dissout rapidement et abondamment dans l'eau contenant des quantités infimes d'électrolytes : acide acétique, soude, acétate de soude, chlorure de sodium, etc. On obtient aisément des solutions concentrées de couleur bleu très foncé.] En dialysant à la glacière la liqueur limpide introduite dans un sac de collodion, on détermina la précipitation de l'oxyhémocyanine.

¹ Il s'agit sans doute de *cristaux squelettes* provenant d'octaèdres dont l'accroissement s'est fait principalement suivant la direction des trois axes rectangulaires. Si on place dans un champ électrique du sang d'escargot longuement dialysé, mais encore limpide, on détermine le dépôt d'oxyhémocyanine en cristaux octaédriques dans la région anodique. (Cf. ma communication à l'Acad. des sciences.)

Ce dépôt est uniquement formé de cristaux : *sphérules* (conglomérats cristallins), si la cristallisation se fait rapidement ; *octaèdres*, si la cristallisation se fait lentement.

L'hémocyanine pure donne nettement les réactions : xanthoprotéique, de Millon, d'Adamkiewicz, de Piotrowski et de Molisch.

J'ai constaté la présence du cuivre au moyen de l'épreuve suivante : Un demi-gramme à peu près de cristaux secs laissa à la calcination un petit résidu noir, soluble dans quelques gouttes d'acide nitrique, en donnant une liqueur bleue. Cette liqueur fut évaporée dans le vide au-dessus de fragments de potasse ; il resta des cristaux bleus dont la solution se colora fortement en rouge-brun par addition de ferrocyanure de potassium.

Fig. 50
Sang
l'escargot.



Fig. 51
Oxyhémocyanine
l'escargot.

28. Spectre de l'oxyhémocyanine cristallisée.

La fig. 51, reproduit la photographie du spectre d'absorption de l'oxyhémocyanine d'escargot cristallisée et pure (solution dans de l'eau contenant une trace d'acide acétique, — concentration de la liqueur : 7^{gr},59 par litre). Le relevé numérique qui suit se rapporte à ce spectrogramme.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDES D'ABSORPTION		DERNIÈRE RAIE λ
	I — λ	II — λ	
1			2374
2		(2927—2628)	2445
3		2927—2628	2493
4		— →	2548
5		—	2607
6	(3573—3345)	—	2680
7	(3573—3345)	—	2681
8	3573—3345	—	2686
9	3611—3303	—	2905
10	3640—3282	—	3003
11	3680—3213	—	3018
12	3720—3177	—	3036

Conclusions : Une solution d'oxyhémocyanine interposée en couche suffisamment mince absorbe les radiations ultra-violettes comprises entre les raies λ 2927 Å et λ 2628 Å. En augmentant l'épaisseur, il apparaît une nouvelle bande qui s'étend de λ 3640 Å à λ 3282 Å (largeur moyenne).

Quelle est la signification de chacune de ces deux bandes ?

La bande la plus réfrangible coïncide avec celle que montrent toutes les substances albuminoïdes ; or, l'hémocyanine présente toutes les réactions de coloration des albuminoïdes, il est donc tout naturel qu'elle ait aussi en commun ce caractère spectral.

Quant à l'autre bande, elle semble caractéristique de l'oxyhémocyanine. Elle est probablement signalétique du groupement prosthétique cuprifère.

L'oxyhémocyanine, comme l'oxyhémoglobine, offre donc, dans la portion invisible du spectre, deux bandes d'absorption.

Remarquons que, quand on examine, sous des épaisseurs croissantes, une solution d'oxyhémoglobine, l'apparition de la bande du groupement prosthétique (hématine) devance celle de la bande du groupement protéique (globine) ; dans le cas de l'oxyhémocyanine, c'est l'inverse que l'on observe.

Grâce à la collaboration de M. Lapicque, j'ai pu tout récemment (septembre 1908) étudier aussi le spectre d'absorption ultra-violet de l'*oxyhémocyanine de poulpe* (*Octopus vulgaris*).

Du sang de poulpe fut recueilli, sur l'animal vivant, dans un flacon contenant un peu de fluorure de sodium pulvérisé (NaFl pur et neutre de Merck), au moyen d'une canule de verre introduite dans un tronc artériel. Au moment d'être soumis à l'examen spectrographique — 48 h. environ après avoir été recueilli —, cet échantillon de sang était dans un état de conservation parfaite (coloration d'un bleu vif, aucune odeur anormale); il y avait seulement, au fond du flacon, un léger précipité de fluorure de calcium et un dépôt de leucocytes agglutinés (caillot plasmodial ou *syncytium*) qu'on élimina par filtration. La réaction du sang était nettement alcaline au tournesol.

En couche de 0^{mm},2 d'épaisseur, ce sang laissait passer tout l'ultra-violet jusqu'à la raie λ 2948 Å, où commençait une bande d'absorption s'étendant jusqu'à la raie λ 2599 Å: les rayons plus réfringibles étaient transmis jusqu'à λ 2502 Å. En couche de 1^{mm},8, l'extrême ultra-violet, à partir de λ 3044 Å était intercepté, ce qui entraînait la disparition de la bande d'absorption précédente: mais on constatait l'apparition d'une nouvelle bande d'absorption comprise entre les raies λ 3573 Å et λ 3345 Å. Enfin, en couche de 2^{mm},2, cette dernière bande d'absorption s'étendait de λ 3640 Å à λ 3282 Å, et les raies plus réfringibles que λ 3072 Å étaient offusquées.

J'ai examiné, de plus, le spectre d'absorption de l'*oxyhémocyanine de poulpe recristallisée*¹, et j'ai pu constater

¹ L'oxyhémocyanine de poulpe a été cristallisée au moyen de la méthode de Hopkins, déjà utilisée dans le même but par Henze. La cristallisation est aisée et rapide, même dans le cas de l'emploi de sang additionné de NaFl comme antiseptique, ce qui est intéressant à noter au point de vue pratique. Peu de temps après l'addition, au sang, de sulfate d'ammonium et d'acide acétique, on voit que le précipité qui s'est formé présente, quand on l'agite dans la liqueur, l'aspect de nuages à reflets chatoyants; et, à un fort grossissement, on constate que ce précipité est exclusivement constitué par de fines aiguilles cristallines.

que ce spectre est très analogue à celui que montre le sang de poulpe : dans un cas comme dans l'autre, on observe, en faisant croître l'épaisseur de la couche traversée par la lumière, l'apparition successive de deux bandes d'absorption avec des localisations respectives presque identiques ¹.

Ces recherches sur le spectre d'absorption ultra-violet de l'oxyhémocyanine de poulpe conduisent donc à des résultats qui correspondent parfaitement bien à ceux obtenus avec l'oxyhémocyanine d'escargot, et cette concordance des résultats vient à l'appui des *conclusions* formulées précédemment.

§ 3. — Absorption des rayons ultra-violets par une nucléine.

29. Spectres de la nucléine de la levure de bière et de l'acide nucléique correspondant. Les nucléines résultent de la combinaison de certaines substances albuminoï-

Pour obtenir un produit de seconde cristallisation exempt de particules amorphes, il faut prendre de grandes précautions, car il y a tendance à la formation de membranes superficielles solides (les conditions de production de ces membranes ont été bien étudiées par Ramsden, dans le cas d'une solution d'ovalbumine).

J'ai utilisé, pour l'examen spectrographique, une solution d'oxyhémocyanine recristallisée qui n'avait pas été dialysée, et qui contenait, par conséquent, une grande quantité de sulfate d'ammonium.

Des circonstances accidentelles ne m'ont pas permis d'étudier dans de meilleures conditions, ni aussi complètement qu'il eût été désirable de le faire, le spectre d'absorption de cette oxyhémocyanine cristallisée. Je crois devoir mentionner ici que l'oxyhémocyanine de poulpe recristallisée donne nettement — outre les réactions du biuret, xanthoprotéique et de Millon, déjà signalées par Henze — la réaction d'Adamkiewicz (*nogau tryptophanique*).

¹ Je relève simplement, sur ce spectrogramme de l'oxyhémocyanine de poulpe recristallisée, la délimitation de la bande *albuminoïde*, lorsque la largeur de cette bande est moindre que celle observée sur le spectrogramme du sang de poulpe : l'absorption porte alors sur les radiations comprises entre λ 2927 Å et 2628 Å, la dernière raie transmise étant λ 2445 Å.

des avec les acides nucléiques. Il y a une grande variété de nucléines à la formation desquelles prennent part des acides nucléiques très différents.

Je n'ai examiné qu'une seule nucléine : celle que l'on extrait de la levure de bière. Elle est d'un type assez complexe, et sa constitution est relativement bien connue.

Il serait sans doute intéressant d'étudier les spectres des nucléines répondant à d'autres types.

a) Nucléine extraite de la levure de bière (de GRÜBLER). Donne nettement les réactions : du biuret, xanthoprotéique, de Millon et d'Adamkiewicz. Solution à 1 p. 5 000 dans la soude N 500.



Fig. 52 — Nucléine de la levure de bière.

ÉPAISSEUR en mm.	POSE ¹ en secondes	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1	33		2100
2	36		2100
3	39		2130
4	42		2130
5	45		2144
6	48	(2704—2446)	2195
8	54	(2704—2446)	2204
10	60	2728—2419	2265
12	66	2740—2405	2265
14	72	2749—2329	2265
17	81	2802—2313	2313
20	90	—	2833

¹ La pose n'est pas uniforme pour les spectres décrits dans ce § 3. Ces spectres ont été photographiés, en effet, au début de mes recherches.

Le spectrogramme de cette nucléine est assez surprenant au premier abord; il s'expliquera aisément quand nous connaîtrons le spectre d'absorption de l'acide nucléique correspondant.

β) Acide nucléique extrait de la levure de bière (de GRÜBLER).

Solution à 1 p. 10 000 dans la soude N 500¹. La liqueur est alcaline; il s'agit donc d'une solution de nucléinate de sodium dans un excès de soude.



Fig. 53 — Acide nucléique de la levure de bière.

ÉPAISSEUR en mm.	POSE en secondes	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIL λ
4	38		2100
7	44		2139
10	50		2139
13	56	(2663—2446)	2144
16	62	(2663—2446)	2195
19	68	2728—2419	2195
22	74	2740—2413	2204
25	80	2747—2394	2265
29	88	2749—2343	2265
33	96	2749—2329	2265
38	106	2802—2321	2265
44	118	2823—2313	2265

à une époque où je croyais préférable, pour des raisons déjà indiquées (p. 31), d'augmenter la durée de la pose en même temps qu'augmentait l'épaisseur de la couche interposée.

¹ Les nucléines sont insolubles dans l'eau pure, c'est pourquoi j'ai

On peut constater que les spectre d'absorption de la nucléine de levure et de l'acide nucléique correspondant sont extrêmement analogues.

Remarquons encore que le spectre de la nucléine ne permet pas de reconnaître la nature partiellement albuminoïde de ce composé. Cette particularité résulte évidemment du pouvoir absorbant très prédominant de l'acide nucléique (groupement prosthétique) qui éteint les radiations qui formeraient, du côté le plus réfrangible, la limite de la bande *albuminoïde* avant que l'épaisseur soit suffisante pour que cette bande apparaisse.

Conclusions : La nucléine de levure présente un spectre d'absorption à une seule bande, s'étendant des raies λ 2749 Å à λ 2329 Å (largeur moyenne) ; cette bande est due au groupement prosthétique (acide nucléique).

Le pouvoir absorbant du groupement prosthétique s'exerce sur les radiations les plus réfrangibles pour lesquelles le groupement albuminoïde serait transparent, et masque, à cause de son intensité prédominante, la bande d'absorption albuminoïde.

Voyons maintenant comment on peut interpréter le spectre d'absorption de l'acide nucléique au moyen des spectres de ses dérivés.

30. Spectres des dérivés des acides nucléiques.

On sait que les acides nucléiques sont des corps de constitution très complexe, fournissant par hydrolyse les termes suivants :

examiné la nucléine de levure dans l'eau additionnée de soude où elle se dissout bien. Pour que les milieux soient comparables, j'ai examiné l'acide nucléique en solution également dans la soude en excès.

J'ai étudié aussi le spectre d'absorption de l'acide nucléique dissous simplement dans l'eau distillée ; le spectre est sensiblement le même qu'en milieu alcalin, et est, par conséquent, indépendant de la réaction.

- A — Acide phosphorique ;**
- B. — Hydrates de carbone ;**
- C. — Bases pyrimidiques ;**
- D. — Bases puriques.**

L'acide nucléique de levure donne comme produits d'hydrolyse : α) de l'acide phosphorique ; β) du xylose et un sucre en c'' associé à un complexe hydrocarboné encore inconnu : γ) de l'uracile et de la cytosine ; δ) de la sarcosine, de la guanine et de l'adénine ¹.

J'ai examiné les propriétés d'absorption de quelques représentants de ces diverses catégories de dérivés ².

A. — Acide phosphorique.

Orthophosphate disodique (de MERCK). Une solution à 1 p. 100 transmet, sous l'épaisseur de 6 cm., tout l'ultra-violet jusqu'à λ 2100 Å.

B. — Hydrates de carbone.

a. Xylose (de KAHLBAUM). Une solution à 1 p. 100 transmet, sous l'épaisseur de 6 cm., tout l'ultra-violet jusqu'à λ 2139 Å.

b. Glycose (de MERCK). Une solution à 1 p. 100 transmet, sous l'épaisseur de 6 cm., tout l'ultra-violet jusqu'à λ 2139 Å.

C. — Base pyrimidique.

Méthyluracile ou 4-méthyl-2,6-dioxypyrimidine (de KÖNIG). N'ayant pas eu à ma disposition de l'uracile ni de la cytosine, j'ai examiné le méthyluracile commercial qui ne diffère de la thymine (base pyrimidique contenue dans l'acide nucléique du thymus) que par la position du groupement CH^3 . Suivant le schème de l'uracile généralement adopté ³.

¹ D'après F. CZAPK : *Biochemie der Pflanzen*, II. 78. 1905.

² Tous ces corps ont été examinés en solution dans l'eau.

³ Pour ce schème de l'uracile et pour les autres schèmes des corps pyrimidiques et puriques, je renvoie le lecteur aux traités spéciaux, en particulier à la monographie de E. WEDEKIND : *Die heterocyklischen Verbindungen der organischen Chemie*. Leipzig. 1901.

la thymine est le 5-méthyluracile, alors que le dérivé dont je vais décrire le spectre est le 4-méthyluracile.

Concentration : 1 p. 10 000.



Fig. 54 — Méthyluracile

ÉPAISSEUR ¹ en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIERE RAIE λ
1		2100
2	(2704—2446)	2130
3	(2712—2446)	2144
4	2714—2446	2170
5	2740—2411	2195
6	2749—2394	2204
8	2749—2382	2265
10	2802—2344	2265
12	2802—2329	2265
14	2802—2321	2265
17	2802—2313	2265
20	2823—2313	2313

D. — Bases puriques.

a. Sarcine ou 6-oxypurine (de MERCK). Solution à 1 p. 10 000.

¹ Les poses consécutives utilisées pour la photographie des spectres des corps pyrimidiques et puriques ont été les mêmes que celles adoptées pour la photographie du spectre de la nucléine de levure (voir 29 a).

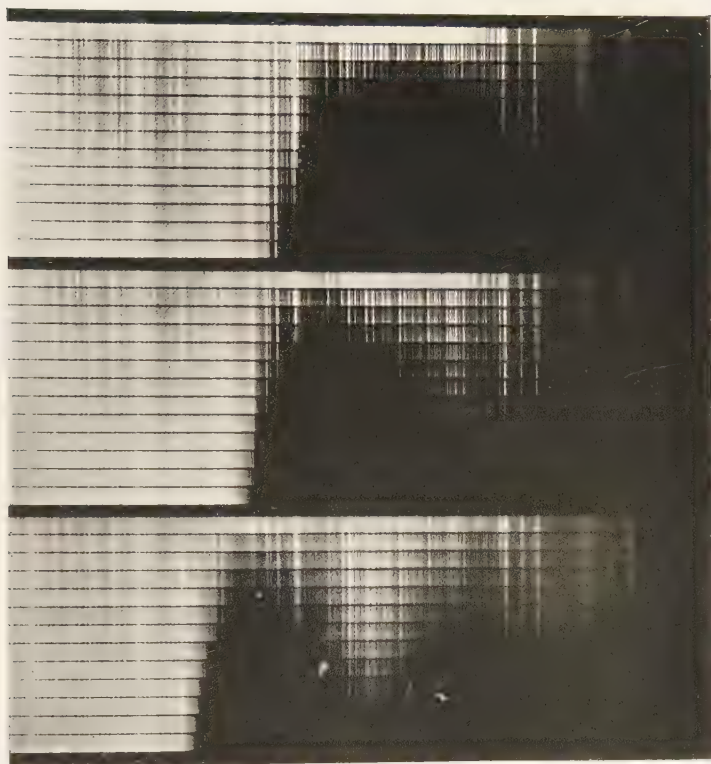


Fig. 55
Sarcine.

Fig. 56
Xanthine.

Fig. 57
Acide
urique.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2100
2	(2502—2446)	2139
3	(2502—2446)	2139
4	2573—2427	2144
5	2593—2374	2144
6	2663—2343	2170
8	2678—2329	2195
10	2704—2313	2195
12	2714—2265	2195
14	2728—2265	2204
17	2728—2204	2204
20	2728 — $\rightarrow$	2749

b. *Xanthine* ou *2,6-dioxypurine* (de MERCK). Solution à 1 p. 20 000.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
2		2100
4		2139
6	(2685—2663)	2139
8	2704—2614	2144
10	2749—2573	2170
12	2749—2558	2195
16	2802—2502	2204
20	2823—2476	2240
24	2823—2446	2265
28	2833—2382	2313
34	— —————>	2873
40	—	2873

c. *Guanine* ou *2-amino-6-oxypurine* (de GRÜBLER). Solution à 1 p. 20 000 dans la soude N 500.

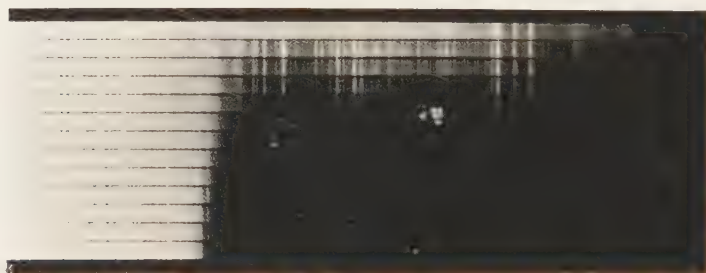


Fig 58 — Guanine

ÉPAISSEUR en mm.	BANDES D'ABSORPTION		DERNIÈRE RAIE λ
	I — λ	II — λ	
2			2139
4			2195
6	(2740—2663)		2240
8	(2740—2663)	(2502—2329)	2265
10	(2801—2628)	(2558—2329)	2265
12		(2833—2321)	2265
16		2873—2313	2313
20	—	—>	2927
24		—	2937
28		—	2948
34		—	2948
40		—	2967

Interprétation du spectre d'absorption de l'acide nucléique. — L'examen des propriétés absorbantes des diverses catégories de dérivés de l'acide nucléique nous autorise à formuler la conclusion suivante :

L'acide nucléique doit son remarquable spectre d'absorption à ce qu'il renferme des groupements pyrimidiques et puriques.

On peut supposer que, dans le noyau de purine, c'est l'anneau pyrimidique qui sert essentiellement de support à la fonction absorbante ¹.

31. Spectres de quelques composés pyrimidiques et puriques. — Je crois qu'il n'est pas sans intérêt de relater ici les résultats que m'a fournis l'examen spectrographique de quelques autres composés pyrimidiques et puriques.

a. Acide barbiturique ou 2,4,6-tricétohexahydroxypyrimidine (de MERCK). Solution à 1 p. 10000.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2100
2		2139
3		2139
4	(2614—2502)	2144
5	2614—2502	2195
6	2658—2476	2195
8	2663—2444	2204
10	2685—2427	2265
12	2689—2413	2265
14	2693—2394	2265
17	2704—2365	2265
20	2707—2331	2265

¹ D'après R. BURIAN [Ergeb. d. Physiol. (Biochemie), III, 100, 1904], les bases pyrimidiques trouvées dans l'hydrolyse des acides nucléiques seraient des termes secondaires, provenant de la décomposition des bases puriques.

b. **Alloxane** ou **2,4,5,6-tétracétohexahydropyrimidine** (de KAHLBAUM). Solution à 1 p. 500.

Sous l'épaisseur de	1 ^{mm} .	la DERNIÈRE RAIE est	λ	2365
	10 »	—	»	2558
	20 »	—	»	2728

Le spectrogramme ne montre pas de bande d'absorption. Je regrette de n'avoir pas examiné cette solution sous une épaisseur inférieure à 1 mm., car il existe peut-être une bande de transparence dans l'extrême ultra-violet.

c. **Carnine** (de MERCK). La constitution de ce composé purique n'est pas encore élucidée d'une façon satisfaisante. On sait, pourtant, que, sous l'action de divers réactifs (Br.AzO³H, etc.), la carnine se scinde en fournissant, comme terme *purique*, de la *sarcine*. D'après la comparaison des formules brutes, on a pu considérer la carnine (C⁷H³N⁴O³) comme formée de sarcine et d'acide acétique (C²H³N¹O²) - (C¹¹H⁴O²).

J'ai examiné une solution à 1 p. 10 000.

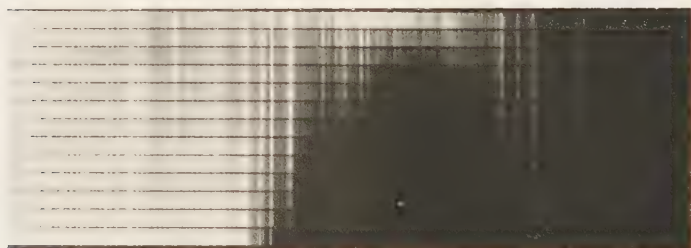


Fig. 59 — Carnine.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2100
2		2139
3	(2502—2446)	2139
4	(2502—2446)	2139
5	2558—2394	2144
6	2573—2382	2144
8	2612—2329	2170
10	2663—2321	2195
12	2685—2313	2195
14	2704—2288	2195
17	2728—2265	2204
20	2740—2265	2265

On voit que *le spectre d'absorption de la carnine est très analogue à celui de la sarcine* (30, D.a).

d. Acide urique ou *2,6,8-trioxypurine* (de KAHLBAUM).
Solution à 1 p. 40 000 ¹ (voir fig. 57, p. 125).

ÉPAISSEUR en mm.	BANDES D'ABSORPTION		DERNIÈRE RAIE λ
	I — λ	II — λ	
3			2100
6			2100
9	(2927—2881)		2100
12	(2927—2881)		2139
15	2948—2801	(2365—2345)	2139
18	2981—2749	2382—2329	2139
24	2986—2684	2444—2288	2144
30	3003—2663	— — —	2476
36	3036—2628		2480
42	3036—2612	—	2502
51	3044—2599	—	2525
60	— — —	— — —	3059

e. Théophylline ou *1,3-diméthylxanthine* (de MERCK).
Solution à 1 p. 10 000.

ÉPAISSEUR en mm.	BANDE D'ABSORPTION λ	DERNIÈRE RAIE λ
1		2100
2		2139
3	(2740—2704)	2144
4	(2749—2663)	2170
5	2771—2663	2195
6	2784—2628	2195
8	2801—2573	2204
10	2833—2531	2265
12	2873—2502	2265
14	2881—2476	2313
17	2911—2446	2374
20	— — —	2927

¹ D'après les recherches de W. HIS jun. et de TH. PAUL (*Physikalisch-chemische Untersuchungen über das Verhalten der Harnsäure und ihrer Salze in Lösungen.* — *Zeitschr. f. physiolog. Chem.*, XXXI, 1, 1900-01), l'acide urique n'est soluble dans l'eau que dans la proportion de 1 p. 39480. La solution que j'ai employée — préparée avec les précautions prescrites par ces auteurs — était donc presque saturée.

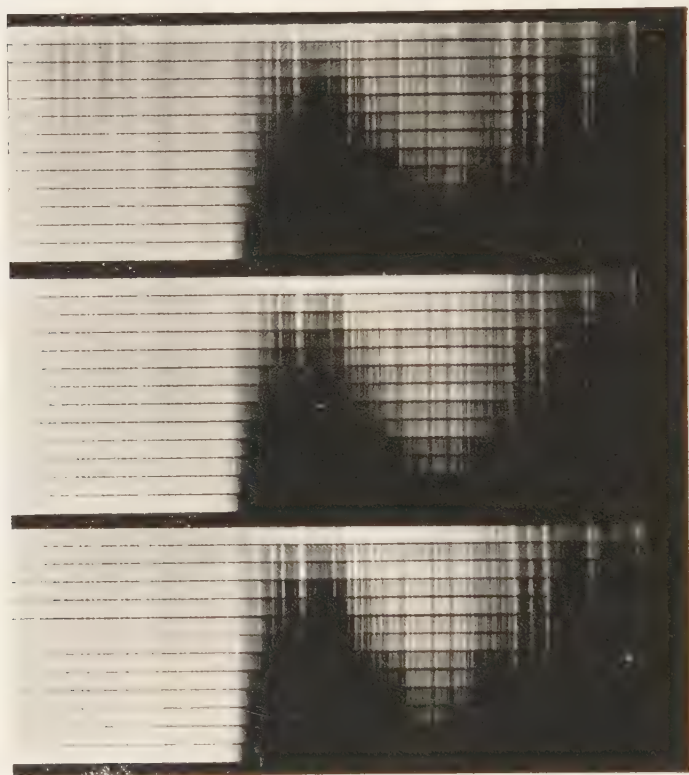
f. **Théobromine** ou *3,7-diméthylxanthine* (de MERCK). Solution à 1 p. 10 000. Mêmes épaisseurs successives que pour la théophylline.

Sous l'épaisseur de 10 mm., la bande d'absorption est comprise entre les raies λ 2873 Å et λ 2558 Å.

Fig. 60
Théophyl-
line

Fig. 61
Theobro-
mine

Fig. 62
Caféine



g. **Caféine** ou *1,3,7-triméthylxanthine* (de BENDER et HOBEIN). Solution à 1 p. 10 000. Mêmes épaisseurs successives que pour la théophylline.

Le spectre présente une grande ressemblance avec ceux des diméthylxanthines (théophylline et théobromine). Sous l'épaisseur de 10 mm., la bande d'absorption s'étend de la raie λ 2873 Å à la raie λ 2573 Å.

L'examen comparatif des spectres des corps puriques révèle d'intéressantes relations entre la situation des bandes d'absorption et la constitution de ces corps. J'attirerai l'attention sur deux de ces relations qui me semblent particulièrement remarquables :

1° *La comparaison entre eux des spectres d'absorption des oxypurines montre que les bandes d'absorption (abstraction faite de la bande secondaire de l'acide urique) se portent d'avantage du côté le moins réfrangible à mesure que la quantité d'oxygène augmente dans la molécule.*

Si nous relevons les raies extrêmes des spectres au moment de la disparition des bandes de transparence, nous avons, pour chacune de ces purines, les valeurs suivantes :

Monoxypurine (*sarcine*) . . . λ 2749 A

Dioxypurine (*xanthine*) . . . λ 2873 »

Trioxypurine (*a. urique*) . . . λ 3059

Ces trois purines forment donc *série* au point de vue de leurs propriétés spectrales comme au point de vue de leurs constitutions chimiques.

2° *La comparaison des spectres des méthylxanthines à celui de la xanthine montre que la méthylation a pour effet de déplacer les bandes d'absorption du côté le moins réfrangible.*

Si nous relevons les raies extrêmes des spectres au moment de la disparition des bandes de transparence, nous avons, pour la xanthine et pour la théophylline, les valeurs suivantes :

Dioxypurine (*xanthine*) . . . λ 2873 A

Diméthylxanthine (*théophylline*). λ 2927 »

Ces résultats de l'examen des purines substituées constituent, en somme, une confirmation nouvelle et frappante des vues théoriques, généralement admises, sur la connexion

qui existe entre la constitution d'un corps et son spectre d'absorption ultra-violet ¹.

¹ Plusieurs des corps pyrimidiques et puriques, dont je viens de décrire les spectres d'absorption, ont été examinés par Soret et par Hartley.

SORET (mémoire de 1883, analysé p. 41) a constaté que l'alloxane montre un spectre uniquement continu, et que la sarcine, la xanthine et l'acide urique montrent des spectres à bandes. Ce savant physicien a malheureusement opéré dans des conditions défectueuses au point de vue chimique, de sorte que ses déterminations sont, pour la plupart, inexactes, et que les relations, qui existent entre les spectres des trois oxypurines, lui ont échappé, bien qu'il les ait recherchées. Voici, d'ailleurs, ce qu'il dit à ce sujet: « La xanthine et la sarcine, qui ne diffèrent dans leur composition que par un atome d'oxygène, présentent une grande analogie; il y aurait de l'intérêt à comparer de plus près ces corps à un état de parfaite pureté. Quant à l'acide urique, qui contient un atome de plus que la xanthine, son spectre est notablement différent. »

HARTLEY a publié, en 1905, un important mémoire — dont je n'ai eu connaissance qu'après avoir achevé et publié (dans les *C. R. Acad. des sciences et Soc. de Biol.* 1905-06) mes recherches sur les corps de ce groupe — intitulé: *The Absorption Spectra of Uric Acid, Murexide, and the Ureides in relation to Colour and to their Chemical Structure*. (*Journ. of the chem. Soc. (Transactions)*, LXXXVII, 1796, 1905). D'après cet auteur:

L'acide barbiturique et l'alloxane offrent des spectres d'absorption continus.

Le spectre de la guanine (chlorhydrate de G. en sol. alcoolique) est aussi continu.

Le spectre de l'acide urique présente une bande d'absorption (H. n'a pas mesuré la seconde bande, la plus réfrangible, signalée par Soret).

Les spectres de la théobromine et de la caféine sont caractérisés, chacun, par une bande d'absorption. (Pour les données numériques, voyez le travail original.)

INDEX ALPHABÉTIQUE

DES PRODUITS EXAMINÉS

	Pages
*Adrénaline non oxydée	86
* — oxydée	87
*Alanine	73
Alloxane	128
Aminobutyrique (acide)	75
*Amphopeptone	67
*Antipeptone	67
Arginine	77
Aspartique (acide)	77
<i>Barbiturique</i> (acide)	127
*Caféine	130
*Carnine	128
*Cystine alcaline	76
* — acide	76
*Deutéroalbumose	65
*Edestine crist.	57
*Gélatine	62
*Globine (de l'oxyhémoglobine crist.)	59
Glutamique (acide)	77
*Glycocolle	73
Glycosamine	78
Glycose	123
*Guanine	126
*Hématine acide	108
* — alcaline	108

	Pages
*Hémocyanine (oxy-) d'escargot crist.	116
Hémocyanine (oxy-) de poulpe crist.	118
*Hémoglobine (oxy-) crist.	101
*Hétéroalbumose	65
Histidine	78
*Indol	84
Inosite	85
Leucine	75
Lysine	77
*Méthyluracile	123
*Nucléine (de la levure de bière)	120
*Nucléique (acide—de la levure)	121
*Oalbumine crist. acide	51
* — » neutre	51
* — » alcaline	52
<i>Peptone de Witte</i>	66
*Phénylalanine acide	78
* — alcaline	79
Proline	82
*Protoalbumose	64
*Sang d'escargot	116

Sang de poulpe	118	*Tryptophane acide	83
* <i>Sarcine</i>	124	* — alcalin	83
*Scatol.	85	*Tyrosine acide	80
Serine	75	** — alcaline	81
* <i>Sérumalbumine</i> crist. acide.	54	Urée	87
* — » neutre	55	*Urique (acide)	129
* — » alcaline	55	Valine	75
* <i>Sérumglobuline</i> neutre	56	* <i>Xanthine</i>	126
* — alcaline	57	Xylose	123
*Théobromine	130		
*Théophylline	129		

Les astérisques indiquent les spectrogrammes reproduits.

Les corps dont le nom est imprimé en **caractères gras** n'avaient été examinés par personne avant moi.

Ceux dont le nom est imprimé en *caractères italiques* n'avaient été examinés que dans des conditions défectueuses et avec des résultats erronés, ou dans d'autres conditions et avec des résultats différents.

Pour les autres corps, mes observations corroborent celles de mes devanciers, ou ne font que les compléter ou les rectifier sur quelques points d'importance secondaire.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	3

CHAPITRE I

Technique spectrographique.

1. Description du spectrographe	7
A. — Partie mécanique	9
B. — Partie optique	11
2. Réglage du spectrographe	13
3. Source de lumière	15
A. — Générateur d'étincelles	16
B. — Caractères des étincelles. — Electrodes	17
C. — Spectro-déflagrateur	19
4. Cuves d'absorption	20
A. — 1 ^{re} type	20
B. — 2 ^{me} type	21
C. — 3 ^{me} type	22
5. Conditions photographiques	29
6. Réduction des observations en λ	32
A. — Formules d'interpolation	33
B. — Interpolation graphique.	35
7. Mesurage des spectrogrammes d'absorption	36
8. Reproduction des spectrogrammes	40

CHAPITRE II

Absorption des rayons ultra-violetes par les albuminoïdes et leurs dérivés.

9. Aperçu historique.	41
10. Critique des travaux de Soret, Hartley et Blyth	44

§ 1. — Absorption des rayons ultra-violetes par les substances albuminoïdes naturelles.

11. A.	Spectres des albumines :	48
a.	Ovalbumine cristallisée	48
b.	Sérumalbumine cristallisée	52
12. B.	— Spectres des globulines :	55
a.	Sérumglobuline	55
b.	Edestine cristallisée	57
13. C.	— Spectre d'une histone :	59
	Globine de l'oxyhémoglobine cristallisée	59
14. D.	— Spectre d'une albumoïde :	62
	Gélatine	62

§ 2. — Absorption des rayons ultra-violetes par les substances albuminoïdes de transformation hydrolytique.

15. A.	— Spectres des proteoses :	64
a.	Protoalbumose	64
b.	Hétéroalbumose	65
c.	Deutéroalbumose	65
d.	Peptone de Witte	66
16. B.	Spectres des peptones :	67
a.	Amphopeptone	67
b.	Antipeptone (polypeptide)	67

§ 3. — Absorption des rayons ultra-violetes par les dérivés non albuminoïdes des substances albuminoïdes.

17.	Classification des dérivés examinés	69
18. A.	— Spectres des dérivés acycliques :	73
a.	Glycocolle	73
b.	Alanine	73
c.	Acide aminobutyrique	75
d.	Valine	75
e.	Leucine	75
f.	Sérine	75
g.	Cystine	76
h.	Acide aspartique	77
i.	Acide glutamique	77
k.	Lysine	77
l.	Arginine	77
m.	Histidine	78
n.	Glycosamine	78

19. B. — Spectres des dérivés carbocycliques:	78
a. Phénylalanine	78
b. Tyrosine	80
20. C. — Spectres des dérivés hétérocycliques:	82
a. Proline.	82
b. Tryptophane	83
c. Indol	84
d. Scatol	85
21. D. — Spectres de quelques dérivés éloignés divers:	85
a. Inosite	85
b. Adréaline	85
c. Urée	87
22. Interprétation du spectre d'absorption des substances albuminoïdes	88

CHAPITRE III

Absorption des rayons ultra-violetes par les protéides et leurs dérivés.

23. Classification des protéides examinées	94
--	----

§ 1. — Absorption des rayons violets et ultra-violetes par l'oxyhémoglobine.

24. Aperçu historique	95
25. Spectre de l'oxyhémoglobine cristallisée	101
26. Spectres des dérivés de l'oxyhémoglobine:	106
A. Hématine	106
B. Globine	111

§ 2. — Absorption des rayons ultra-violetes par l'oxyhémocyanine.

27. Constitution de l'hémocyanine. — Obtention de l'oxyhémocyanine d'escargot cristallisée	112
28. Spectre de l'oxyhémocyanine cristallisée	116

§ 3. — Absorption des rayons ultra-violetes par une nucléine.

29. Spectres de la nucléine de la levure de bière et de l'acide nucléique correspondant.	119
--	-----

30. Spectres des dérivés des acides nucléiques :	122
A. — Acide phosphorique	123
B. — Hydrates de carbone	123
a. Xylose	123
b. Glycose	123
C. — Base pyrimidique	123
Méthyluracile	123
D. — Bases puriques	124
a. Sarcine	124
b. Xanthine	126
c. Guanine	126
31. Spectres de quelques composés pyrimidiques et puriques :	127
a. Acide barbiturique	127
b. Alloxane	128
c. Carnine	128
d. Acide urique	129
e. Théophylline	129
f. Théobromine	130
g. Caféine	130
INDEX ALPHABÉTIQUE DES PRODUITS EXAMINÉS	133

Note additionnelle. 18. A, m, p. 78. — Je suis ABDERHALDEN (Lehrbuch, 160, 1906) en plaçant l'histidine dans la série des dérivés acycliques.

Si, avec H. PAULY (*Über die Konstitution des Histidins.* Zeitschr. f. physiol. Chem., XXXII, 508, 1904), on considère l'histidine comme étant l'acide α -amino- β -imidazolpropionique, la place de cet acide aminé est dans la série hétérocyclique. La formule proposée par Pauly semble confirmée par les récentes recherches de F. KNORE (*Abbau und Konstitution des Histidins.* — Hofmeister's Beiträge, X, 111, 1907).

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

LE CHAPITRE I contient la description succincte de l'ensemble de la *technique spectrographique*, ainsi que la description détaillée de quelques *accessoires* qui constituent des *modèles originaux*, ce sont :

- 1° Des *électrodes*, formées chacune par une tige de fer entourée d'un manchon d'alliage d'Eder, qui fournissent un spectre d'émission particulièrement bien approprié à l'examen de l'absorption des rayons ultra-violet ;
- 2° Des *cuvés* tubulaires en verre, à piston rodé, avec obturateurs en quartz, qui permettent d'interposer les solutions absorbantes en couche d'épaisseur variable et exactement déterminée au moyen d'un mécanisme de mesure spécial ;
- 3° Une *machine à mesurer* les spectrogrammes d'absorption.

LE CHAPITRE II contient l'exposé de mes recherches sur l'*absorption des rayons ultra-violet par les albuminoïdes et leurs dérivés*. De ces recherches résultent les conclusions suivantes :

- 1° Les *substances albuminoïdes* offrent une bande d'absorption dans le spectre ultra-violet, bande appartenant en propre à ces substances, car elle apparait dans toute sa netteté lors de l'examen des substances albuminoïdes très pures que l'on parvient à préparer au moyen des procédés perfectionnés actuels (ovalbumine, sérumalbumine, édestine cristallisées, globine de l'oxyhémoglobine cristallisée, etc.).
- 2° La transparence, pour les rayons ultra-violet, des diverses substances albuminoïdes, — soit naturelles, soit dénaturées (par transformation hydrolytique), — est assez inégale, et l'absorption ne porte pas, dans tous les cas,

sur les mêmes radiations, tant dans la continuité qu'à l'extrémité du spectre. Pourtant, toutes les substances albuminoïdes examinées absorbent, en solutions acides ou neutres, sous une épaisseur convenable pour une concentration donnée, les radiations comprises entre les raies λ 2927 Å et λ 2628 Å (ou λ 2612 Å).

- 3° Parmi les *dérivés* des substances albuminoïdes, certains absorbent simplement, mais avec une intensité variable, la plage terminale ultra-violette ; ce sont : le glycocolle, l'alanine, la valine, la leucine, la sérine, la cystine, les acides aspartique et glutamique, la lysine, l'arginine, l'histidine, la proline, la glycosamine.

D'autres dérivés fournissent un spectre présentant, en plus, une bande d'absorption ; ce sont : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane.

La bande du tryptophane coïncide remarquablement bien avec la bande des albuminoïdes (acides ou neutres), tandis que les bandes de la phénylalanine et de la tyrosine sont notablement plus réfrangibles.

- 4° Sous l'influence de l'*alcalinisation*, il y a une modification profonde du spectre des albuminoïdes : il y a, en particulier, un déplacement plus ou moins accentué de la bande d'absorption vers les rayons les moins réfrangibles.
- 5° Sous l'influence de l'alcalinisation, la bande d'absorption de la phénylalanine est déplacée un peu du côté le plus réfrangible, la bande de la tyrosine est déplacée beaucoup du côté le moins réfrangible, la bande du tryptophane est déplacée un peu du côté le moins réfrangible.
- 6° Les noyaux de la *tyrosine*, du *tryptophane* et de la *phénylalanine* doivent contribuer tous trois, quoiqu'inégalement, à produire la bande d'absorption des substances albuminoïdes.

Les noyaux de la *cystine*, de l'*arginine*, de l'*histidine* et de la *proline* sont relativement peu transparents pour les radiations les plus réfrangibles, et c'est à leur présence surtout que les substances albuminoïdes doivent d'absorber fortement la plage terminale ultra-violette.

- 7° Les caractères spéciaux que présentent les spectres des diverses substances albuminoïdes sont en relation avec la teneur particulière en aminoacides absorbants de chacune de ces substances, et peuvent renseigner sur cette teneur.

LE CHAPITRE III contient l'exposé de mes recherches sur l'absorption des rayons ultra-violet (et violets, dans certains cas) par les protéides et leurs dérivés. De ces recherches résultent les conclusions suivantes :

- 1° En examinant une solution d'oxyhémoglobine cristallisée sous des épaisseurs progressivement croissantes (à partir de l'épaisseur zéro), on voit apparaître d'abord une bande d'absorption seulement dans le violet; cette bande débordé bientôt d'une part dans l'indigo et d'autre part dans l'ultra-violet, mais un peu plus de ce dernier côté, de telle sorte que la longueur d'onde de la raie médiane absorbée diminue constamment. En augmentant encore l'épaisseur, on voit apparaître, en plus de la bande précédente (Bande I), une seconde bande au voisinage de λ 2749 Å (Bande II).

Les limites de chacune de ces deux bandes, dans le cas de la largeur moyenne, sont λ 4349 — λ 3918 Å (Bande I) et λ 2927 — λ 2614 Å (Bande II).

- 2° Les solutions d'hématine pure, examinées sous une épaisseur convenable pour une concentration donnée, montrent une bande d'absorption dont le milieu tombe soit dans la portion terminale du violet (solution alcoolique acide), soit dans la portion initiale de l'ultra-violet (solution aqueuse alcaline). À mesure que l'épaisseur augmente, la bande s'élargit, mais non pas symétriquement, l'absorption portant davantage sur les rayons les plus réfringibles. La transparence pour les radiations ultra-violettes moyennes et extrêmes est relativement considérable.
- 3° De l'examen comparatif des spectres de l'oxyhémoglobine, de l'hématine et de la globine, il résulte que la

constitution de l'oxyhémoglobine se trouve exprimée par son spectre d'absorption violet et ultra-violet, puisque ce spectre présente deux bandes, dont l'une est signalétique de l'hématine et l'autre de la globine.

- 4^o Une solution d'*oxyhémocyanine* cristallisée, interposée en couche suffisamment mince, absorbe les radiations ultra-violettes comprises entre les raies λ 2927 Å et λ 2628 Å. En augmentant l'épaisseur, il apparaît une nouvelle bande qui s'étend de λ 3640 Å à λ 3282 Å (largeur moyenne).
- 5^o La bande d'absorption la plus réfrangible du spectre de l'oxyhémocyanine coïncide avec celle que montrent toutes les substances albuminoïdes : or, l'hémocyanine présente toutes les réactions de coloration des albuminoïdes, il est donc tout naturel qu'elle ait aussi en commun ce caractère spectral. Quant à l'autre bande, elle semble caractéristique de l'oxyhémocyanine. Elle est probablement signalétique du groupement prosthétique cuprifère.
- 6^o La *nucléine de levure* présente un spectre d'absorption à une seule bande s'étendant des raies λ 2749 Å à λ 2329 Å (largeur moyenne); cette bande est due au groupement prosthétique (acide nucléique).

Le pouvoir absorbant du groupement prosthétique s'exerce sur les radiations les plus réfrangibles pour lesquelles le groupement albuminoïde serait transparent, et masque, à cause de son intensité prédominante, la bande d'absorption albuminoïde.

- 7^o L'*acide nucléique* doit son remarquable spectre d'absorption à ce qu'il renferme des groupements pyrimidiques et puriques.

SECONDE THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

GÉOLOGIE. — L'action des eaux courantes.

BOTANIQUE. — Le géotropisme.

Vu et approuvé :

Paris, le 23 avril 1909.

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES,
Paul APPELL.

Vu et permis d'imprimer :

LE VICE-RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,
L. LIARD.

